



Facultad de Veterinaria
Universidad Zaragoza



Trabajo Fin de

Autor

Directores

Facultad de Veterinaria

ÍNDICE

RESUMEN	2
ABSTRACT	2
1. INTRODUCCIÓN	3
2. JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS.....	18
3. MATERIAL Y MÉTODOS.....	19
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	21
4.1. RESULTADOS GENERALES	21
4.1.1.Resultados microbiológicos anteriores a la instauración de tratamientos	22
4.1.2.Resultados microbiológicos posteriores a la instauración de tratamientos.....	22
4.2. VALORACIÓN DE LOS TRATAMIENTOS	23
4.2.1.Valoración de la efectividad a lo largo del tiempo	25
4.3. RESULTADOS DE <i>COXIELLA BURNETII</i>	30
5. CONCLUSIONES.....	31
5.1. CONCLUSIONS.....	31
6. VALORACIÓN PERSONAL	32
7. BIBLIOGRAFÍA	33

RESUMEN

En la actualidad, los problemas abortivos suponen para la ganadería ovina uno de los principales puntos a abordar por parte del ganadero y el veterinario ya que, debido a su posible repercusión económica y sanitaria, puede llegar a comprometer la viabilidad de la explotación.

En este trabajo se ha valorado en 33 explotaciones, gestionadas por la empresa Gabinete Técnico Veterinario S.L. de Zaragoza (GTV), la eficacia de dos métodos de control y prevención frente a *Chlamydomphila abortus* y la tendencia, en las mismas, de los agentes abortivos más frecuentes tras la instauración de dichos métodos. Los métodos analizados han sido la vacunación frente a dicho germen con vacuna viva y con vacuna inactivada. Para este estudio se han utilizado y analizado los resultados microbiológicos de 341 casos de abortos procedentes de las ganaderías participantes, de los que se tomaron muestras de vagina, placenta y fetos. Todas las muestras fueron analizadas en el Laboratorio Agroalimentario del Gobierno de Aragón.

Del total de muestras analizadas, independientemente del momento en el que se produjo el aborto, el patógeno identificado en pureza con mayor frecuencia fue *C. abortus*, presentándose en el 33,7% de las muestras (115/341). El segundo germen identificado en pureza en más ocasiones fue *Coxiella burnetii*, que se observó en el 11,4% de las muestras (39/341). El análisis estadístico de los resultados microbiológicos de los casos de abortos de los que se tomaron muestras ha puesto de manifiesto diferencias significativas en la presencia de *C. abortus* y *C. burnetii* entre las muestras tomadas antes de la instauración de la pauta vacunal y después de la misma. Así, la presencia de *C. abortus* se redujo de un 52,5% a un 28% al aplicar un plan vacunal, mientras que la de *C. burnetii* se incrementó de un 2,5% a un 14,2%.

ABSTRACT

Abortions are one of the main points to address by farmers and veterinarians from sheep breeding. The deep impact that it causes over economy and health could mean the loss of farm's viability.

In this study, 33 farms managed by the company Gabinete Técnico Veterinario S.L. (GTV) were evaluated for their effectiveness concerning two methods of control and prevention against *Chlamydomphila abortus*. Tendency over time of the most frequent abortive agents after the start of these programs was also evaluated. The analyzed methods were live and inactivated vaccine against *C. abortus*. For this study 341 microbiological results from

cases of abortion from selected farms, coming from samples of the vagina, placenta and fetuses were analyzed. All the samples were processed in the Laboratorio Agroalimentario del Gobierno de Aragón.

From the total samples analyzed, regardless the time when the abortion occurred, the pathogen more often isolated in purity was *C. abortus*, occurring in 33,7% of the samples (115/341). The second most frequently isolated germ in purity was *Coxiella burnetii*, which was detected in 11,4% of the samples (39/341). The statistical analysis of the microbiological results revealed significant differences in the isolation of *C. abortus* and *C. burnetii* between the cases analyzed before the start of the vaccination and after it. Thus, the isolation of *C. abortus* suffered a reduction from 52,5% to 28%, while the isolation of *C. burnetii* increased from 2,5% to 14,2%.

1. INTRODUCCIÓN

El aborto es la interrupción de la gestación, con reabsorción del feto o su inmediata o posterior expulsión, generalmente muerto o bien afectado por un proceso patológico que le ocasionará la muerte en las horas posteriores a su expulsión. Los procesos abortivos suponen uno de los problemas más importantes de las explotaciones de ganado ovino y caprino, afectando gravemente a su economía y situándose entre los motivos principales de consulta veterinaria (Ferrer y Gil, 2005).

En ocasiones, en las explotaciones se dan situaciones que, aunque no son contabilizadas como un problema de abortos, deben ser consideradas como tal. Una de estas situaciones es el retorno a celo, tanto de ovejas que habían sido diagnosticadas como gestantes como de ciertos animales que presentan un ciclo estral de duración superior a la fisiológica, siendo la causa la reabsorción fetal. Además, como se ha comentado, se deben tener en cuenta aquellos corderos que nacen vivos pero enfermos y sin posibilidades de supervivencia, e incluso aquellas ovejas que mueren a causa de la maceración, momificación u otras alteraciones del feto pero que no llegan a abortar (Ferrer y Gil, 2005).

Una tasa de abortos del 1-3% puede ser considerada como normal dentro de una explotación ganadera (Mearns, 2007a). No obstante, la incidencia real generalmente está infravalorada debido a que el ganadero únicamente percibe y contabiliza los abortos que se producen en el último tercio de gestación y que se traducen en una expulsión de fetos (Sancho, 2013).

Los abortos pueden clasificarse en función de varios criterios. Así, en función del momento en el que se producen, se consideran abortos tempranos aquellos que suceden entre los días 15 y 60 de gestación (primer tercio), abortos medios los que ocurren entre los días 60 y 110 de gestación (segundo tercio) y abortos tardíos aquellos que aparecen entre los días 110 y 140 de gestación (último tercio) (Navarro et al., 2006).

Igualmente, en función de las causas que los producen, los abortos se dividen en infecciosos y no infecciosos. Los abortos no infecciosos suponen entre un 10% y un 30% del total, mientras que las causas infecciosas van a estar involucradas en los procesos abortivos en la mayoría de las ocasiones (Ferrer y Gil, 2005). Estas causas pueden ser bacterianas, víricas, parasitarias o fúngicas (Fariñas y Zorrilla, 2005).

Los principales procesos abortivos de causa infecciosa son:

- Aborto enzoótico.
- Aborto paratífico.
- Fiebre Q.
- Toxoplasmosis.
- Campilobacteriosis.
- Enfermedad de la frontera o Border disease.
- Brucelosis.

A continuación se describen los principales procesos abortivos descritos en las explotaciones de ovino de España, centrándose en la profilaxis y tratamiento de los mismos, por su utilidad para el presente trabajo.

1. ABORTO ENZOÓTICO

Esta enfermedad es el principal proceso abortivo en España, así como en la mayor parte de países productores de ganado ovino, a excepción de Australia y Nueva Zelanda (Ferrer y Gil, 2005). El agente causal o etiológico de esta enfermedad es la bacteria *Chlamydophila abortus*, la cual posee un comportamiento parásito intracelular estricto (Scott, 2007).

Las bacterias pertenecientes al género *Chlamydiae* presentan un ciclo de desarrollo bifásico. Este ciclo incluye una forma infecciosa (cuerpo elemental) y una forma no infecciosa (cuerpo reticulado). El cuerpo elemental es capaz de evadir los mecanismos naturales de defensa de las células que invade (Rodolakis y Laroucau, 2015).

La infección se produce en su mayoría por vía oral a partir de la bacteria que se elimina por secreciones vaginales, placentas y fetos procedentes de animales abortados. La

transmisión por vía oral también se puede producir a partir de la bacteria eliminada en las heces o en la leche. Otras posibilidades de infección son la inhalación de aerosoles contaminados o la transmisión venérea, puesto que los machos infectados pueden excretar la bacteria a través del semen. (Salinas et al., 2014).

Chlamydophila abortus va a producir una infección latente en las ovejas no gestantes, sin llegar a estimular una inmunidad protectora en el animal. En el momento en el que estos animales queden gestantes, la bacteria se reactivará y multiplicará, ocasionando el aborto. Si el rebaño se infecta por primera vez, hasta un tercio de las ovejas gestantes pueden llegar a abortar (Rodolakis y Laroucau, 2015). Estos abortos van a presentarse en las últimas tres semanas de gestación, pudiendo llegar a nacer corderos débiles, generalmente inviábiles, en la misma parición. Durante un período de dos o tres años todas las hembras gestantes pueden sufrir un proceso abortivo. Después, la enfermedad adquiere una naturaleza cíclica, abortando normalmente las corderas una vez, y desarrollando posteriormente una inmunidad protectora. Sin embargo, van a seguir excretando la bacteria en partos posteriores, contribuyendo así al mantenimiento y diseminación de la enfermedad en la explotación (Mearns, 2007a; Rodolakis y Laroucau, 2015; Salinas et al., 2014).

Las lesiones que más se asocian y describen en el aborto enzoótico son una placentitis con necrosis de los cotiledones y acumulación de un exudado marrón-rojizo en la zona intercotiledonaria de la placenta (Rodolakis y Laroucau, 2015).

Para realizar un diagnóstico definitivo del aborto enzoótico es preciso recurrir al diagnóstico laboratorial. Éste puede ser directo, con técnicas como la inmunofluorescencia o el test ELISA, o indirecto, con técnicas como el test de Fijación del Complemento (Rodolakis y Laroucau, 2015; Salinas et al., 2014).

Ante un brote abortivo por *Chlamydophila abortus* se utiliza la antibioterapia como tratamiento para reducir la tasa de abortos. Los antibióticos de elección son las tetraciclinas, siendo común la administración de oxitetraciclina de dos dosis de 20mg/kg de peso vivo por vía intramuscular en el último mes de gestación, guardando un intervalo de 15 días entre dosis. Sin embargo, con la antibioterapia no se consigue que los animales dejen de excretar la bacteria. Por tanto, la antibioterapia puede ser de utilidad a la hora de abordar un brote abortivo, pero no debe utilizarse como medida preventiva ya que, además de no ser efectiva, es posible que aparezcan resistencias antibióticas. Por consiguiente, la prevención de esta enfermedad debe centrarse en medidas higiénicas y en una correcta pauta de vacunación (Rodolakis y Laroucau, 2015).

Las medidas higiénicas pasan por mantener unos adecuados niveles de bioseguridad, prestando especial atención a la introducción de nuevos animales en explotaciones libres de clamidiosis, y asegurándose que provienen también de explotaciones libres. Además, se debe realizar una correcta eliminación de los materiales abortivos como placentas y fetos, ya que constituyen la mayor fuente de infección. También es importante realizar desinfecciones periódicas para evitar el aumento de contaminación (Rodolakis y Laroucau, 2015; Salinas et al., 2014).

En cuanto a la profilaxis, en la actualidad se encuentran disponibles dos tipos de vacunas frente al aborto enzoótico: inactivada y viva atenuada. Las vacunas inactivadas fueron las primeras en desarrollarse hace ya más de 50 años (Entrican et al., 2012). Sin embargo, al igual que con la antibioterapia, no se consigue evitar la excreción bacteriana en el parto o el aborto con este tipo de vacunas. Consecuentemente, la vacuna inactivada reduce la tasa de abortos pero no evita el mantenimiento de la infección en la explotación. Comercialmente la vacuna inactivada frente a *C. abortus* está combinada con *S. abortus ovis* (Rodolakis y Laroucau, 2015).

En los últimos años, y para solucionar la problemática que presenta la vacuna inactivada, se desarrolló una vacuna viva atenuada, compuesta por una cepa mutante termosensible de *C. abortus* (Entrican et al., 2012). Esta cepa crece como una cepa normal a 37°C, mientras que a la temperatura corporal de la oveja (39°C) la cepa limita considerablemente su crecimiento. Con esta vacuna se evita la excreción bacteriana, sin embargo posee una serie de inconvenientes, ya que al tratarse de una vacuna viva puede volverse virulenta y provocar el aborto. Además, la vacuna viva no puede utilizarse en animales gestantes o tratados con antibióticos, por lo que su uso queda restringido en dichos animales (Salinas et al. 2014). Otro inconveniente es la imposibilidad de diferenciar los anticuerpos vacunales de los generados por los animales en la infección natural, por lo que los diagnósticos pueden estar falseados o enmascarados (Longbottom et al., 2013). Esta vacuna viva atenuada puede administrarse simultáneamente con las vacunas frente a *Brucella*, *Toxoplasma* o *C. burnetii* (Rodolakis y Laroucau, 2015).

La vacuna frente a *Chlamydomphila*, ya sea inactivada o viva atenuada, para ser eficaz, debe ser capaz de estimular una respuesta inmune específica que se caracteriza por una potente respuesta Th1. Esta respuesta conlleva la producción de citoquinas pro-inflamatorias como el IFN- γ y la activación de linfocitos T CD4+ y CD8+. Éstos últimos resultan más importantes frente a *Chlamydomphila* en una primoinfección, pero ante una infección secundaria como puede ser la vacunación, ambos tipos de linfocitos no parecen poseer un

papel crucial por sí mismos en la resolución de la infección. Por tanto, la ausencia de alguno de los tipos de linfocitos no va a resultar esencial en el desarrollo de la respuesta inmune (Ortega et al., 2006).

Las últimas investigaciones, con el fin de evitar los inconvenientes que suponen las vacunas que se encuentran comercializadas, se centran en la elaboración de vacunas subcelulares, a través de moléculas como la proteína MOMP purificada, MOMP recombinante o gen *omp1*, capaces de inducir la respuesta inmune específica anteriormente descrita (Ortega et al., 2006; Rodolakis y Laroucau, 2015). Sin embargo, aún no ha sido posible desarrollar una vacuna subcelular o genética lo suficientemente efectiva como para lanzarse al mercado. Otra línea de investigación reciente se centra en la incorporación de los adyuvantes adecuados como forma de aumentar la eficacia vacunal (Rodolakis y Laroucau, 2015).

2. ABORTO PARATÍFICO

El aborto paratífico es un proceso patológico provocado por *Salmonella* spp. En la bibliografía son varios los serotipos de *Salmonella* spp. que han sido descritos como causantes de cuadros abortivos: *S. montevideo*, *S. dublin*, *S. typhimurium*, *S. brandenburg* y *S. abortus ovis* (Scott, 2007). No obstante, *S. abortus ovis* es el serotipo que con mayor frecuencia se encuentra implicado en los procesos abortivos en España (Ferrer y Gil, 2005), y por tanto, en el que se va a centrar este apartado del trabajo.

Generalmente, la infección aparece por primera vez en los rebaños sanos por la introducción en ellos de animales aparentemente sanos pero portadores del germen. La bacteria también puede llegar a los rebaños a través de aguas o pastos contaminados (Mearns, 2007b). Los animales infectados, ante situaciones de estrés, van a excretar la bacteria en las heces. (Scott, 2007).

La entrada del germen en el animal se produce por vía oral. La excreción bacteriana al medio que se produce durante el parto o en el aborto, constituye la principal fuente de infección para el rebaño (González, 2002). Tras la infección, se produce una fase de bacteriemia que lleva a la colonización del útero de los animales susceptibles, provocando la muerte fetal y aborto. En otras ocasiones nacen animales prematuros, dependiendo del momento de gestación en el que se encuentre el animal afectado (Scott, 2007).

Los abortos provocados por este agente suelen ser tardíos, teniendo lugar el último mes de gestación. La tasa de abortos puede llegar a superar el 50% en los rebaños que se infectan por primera vez, pero tras este aborto las ovejas rara vez vuelven a abortar a causa de

la infección por *S. abortus ovis*, siendo capaces de desarrollar una fuerte respuesta inmunitaria de larga duración (Lacasta et al., 2015; Menzies, 2012; Mobini et al., 2002; Scott, 2007).

El cuadro clínico puede orientar el diagnóstico en algunos casos, siendo característico un cuadro febril y una afección generalizada de las ovejas días antes de abortar. Además, la mortalidad de las madres es mayor que en otros procesos abortivos. Sin embargo, presenta similitudes con otras causas abortivas, por lo que no resulta concluyente. El diagnóstico de elección es el bacteriológico, pudiendo aislarse la bacteria de las muestras de placenta, fluidos vaginales y el contenido abomasal de los fetos abortados (Ferrer y Gil, 2005; Mearns, 2007b).

En el momento en el que *S. abortus ovis* es identificada como la causa del problema abortivo, la infección es muy probable que ya se encuentre diseminada por el rebaño. Ante esta situación, el control se centra en aislar a las ovejas afectadas, destruir los fetos abortados y las placentas y realizar una exhaustiva desinfección de las instalaciones (González, 2002). En esta circunstancia, el uso de antibióticos de manera metafíláctica no está justificado económicamente, aunque la aplicación de oxitetraciclinas de acción prolongada puede reducir el número de muertes a causa de las metritis en un brote abortivo (Scott, 2007).

La prevención de la enfermedad pasa por mantener un rebaño cerrado con una condición sanitaria elevada. En los rebaños donde esto no sea posible, hay que asegurar la procedencia de la reposición externa, separándola del resto de animales en su primer parto (Scott, 2007). Por otra parte, la vacunación frente a *S. abortus ovis* supone una buena opción, ya que, como se ha visto anteriormente, tras la infección por esta bacteria el animal es capaz de adquirir una potente respuesta inmunitaria. Por tanto, es esta capacidad en la que se basa la aplicación de una pauta de vacunación (Lacasta et al., 2015). Tanto vacunas inactivadas como atenuadas han sido objeto de estudio. Estos trabajos han revelado que la vacuna inactivada es capaz de inducir en el animal una respuesta inmune tanto humoral como celular, jugando un papel importante en ésta el IFN- γ , estando relacionada su ausencia con el aborto por *S. abortus ovis* (Cagiola et al., 2007). Para adquirir niveles aceptables de protección, la pauta de vacunación recomendada es la administración de dos inoculaciones subcutáneas, con un intervalo de 15 días, aproximadamente 50 días antes de la cubrición (Menzies, 2012). Tras la revacunación, las ovejas muestran un incremento agudo de los títulos de anticuerpos a los 9 días de la inyección (Cagiola et al., 2007). Esta vacuna inactivada se puede administrar en una presentación comercial conjunta frente a *S. abortus ovis* y *C. abortus*, ya comentada anteriormente.

Además, respecto a las vacunas atenuadas, existe disponible a nivel comercial una vacuna atenuada liofilizada compuesta por la cepa Rv6 de *S. abortus ovis*, capaz de mantener niveles elevados de anticuerpos en el animal hasta tres años tras la vacunación. Esta vacuna está diseñada especialmente para aquellos rebaños en los cuales la enfermedad se encuentra de manera enzoótica. No obstante, esta vacuna interfiere con el diagnóstico serológico de la enfermedad (Menzies, 2012).

3. FIEBRE Q

La Fiebre Q es una zoonosis distribuida mundialmente producida por la bacteria *Coxiella burnetii*. Esta bacteria, Gram negativa e intracelular, es muy resistente en el medio ambiente y presenta dos ciclos: un ciclo doméstico del cual forman parte los rumiantes y los animales de compañía, y un ciclo silvestre, en el que se ven involucrados los animales silvestres y las garrapatas (García-Pérez y Astobiza, 2014; Mearns, 2007b).

Coxiella burnetii presenta variaciones antigénicas en el lipopolisacárido (LPS) de la membrana externa. De esta forma, cuando la bacteria expresa el LPS de manera completa se encuentra en fase I, que es la forma virulenta. Así mismo, cuando la bacteria es aislada en un cultivo celular o en huevos embrionados, y tras numerosos pases, su membrana externa sufre una serie de variaciones. Es en este momento cuando la bacteria se encuentra en fase II, que es la forma no patogénica (Astobiza, 2012).

En los pequeños rumiantes esta enfermedad se manifiesta principalmente con la aparición de abortos, aunque también puede tener lugar el nacimiento de animales prematuros (Esnal, 2010; Mearns, 2007b). Estos abortos se producen siempre en el último tercio de gestación, presentándose una tasa más elevada en el ganado caprino. Además, los animales de esta especie que abortan por primera vez pueden sufrir otro aborto en la siguiente gestación, algo que no se produce en la especie ovina (García-Pérez y Astobiza, 2014).

La principal vía de infección tanto en personas como en animales es la vía aerógena, mediante la inhalación de aerosoles contaminados con la bacteria. Los animales infectados, tras el parto o en el aborto, expulsan gran cantidad de bacterias al medio a través de los fluidos fetales y la placenta. Por otra parte, dichos animales infectados, además, pueden eliminar la bacteria a través de heces, orina y leche. El contacto con material infectado, el consumo de pastos contaminados o las picaduras de garrapata son otras posibles formas de infección (Astobiza, 2012; Mobini et al., 2002).

La presentación de los abortos en el último tercio de gestación y la presencia de placentitis fibrino-necrótica con engrosamiento de las áreas intercotiledonarias, pueden considerarse como indicios clínicos de la presencia de *Coxiella*, sin embargo no resultan concluyentes en su diagnóstico. Por tanto, es necesario recurrir al diagnóstico laboratorial, ya sea directo o indirecto (Astobiza, 2012; Esnal, 2010). Entre las técnicas laboratoriales cabe mencionar el aislamiento en cultivos celulares, que presenta el inconveniente de que *C. burnetii* no crece en los medios usados habitualmente, lo que obstaculizará la realización de pruebas de sensibilidad a antibióticos, y por tanto va a dificultar el control de la enfermedad (Astobiza, 2012).

En los pequeños rumiantes el control de esta enfermedad pasa por llevar a cabo una serie de medidas higiénico-sanitarias generales en la explotación y aplicar una o ambas de las posibles acciones disponibles: antibioterapia y vacunación (García-Pérez et al., 2012).

En la explotación resulta muy importante implantar una serie de medidas para evitar la propagación de la enfermedad, ya que se trata de una enfermedad infecciosa y zoonótica. Las actuaciones a realizar pasan por un incremento de las medidas de bioseguridad y la manipulación y eliminación adecuadas de los desechos abortivos como fetos y placentas, pues se trata de material muy infectante. Además, debe realizarse una correcta manipulación de los animales abortados, los cuales deben ser separados del rebaño durante un período de entre uno y dos meses. Por último, se debe llevar a cabo un control de vectores y posibles hospedadores como aves, garrapatas y roedores (Esnal, 2010).

La antibioterapia como control de la fiebre Q se ve limitada por la dificultad de realizar pruebas de sensibilidad a los antibióticos para este germen, debido a la dificultad de su cultivo, comentada anteriormente. Ante un brote de abortos, el antibiótico de elección es la oxitetraciclina, al igual que en el caso del aborto enzoótico. Se trata de un antibiótico de amplio espectro que para controlar los abortos por fiebre Q se administra a una dosis doble de 20mg/kg intramuscularmente con un intervalo de 15 días al final de la gestación, entre los días 100 y 120. Este tratamiento puede controlar el brote de abortos, sin embargo no evita que los animales sigan excretando la bacteria (Astobiza, 2012; García-Pérez et al., 2012).

La limitada eficacia que presenta la antibioterapia frente a la fiebre Q, hace de la vacunación la mejor opción para la profilaxis de la enfermedad. Hasta el momento son varias las vacunas experimentales que han sido desarrolladas frente a esta enfermedad tanto para humanos como para animales. Las vacunas creadas para uso en animales están compuestas en

su mayoría por células enteras en fase I, ya que las vacunas en fase II no han sido eficaces en la protección frente a la infección (Astobiza, 2012).

La eficacia de la vacunación va a depender de si se aplica de manera preventiva, vacunado a aquellos animales no infectados, o si se administra en respuesta a un brote de abortos por *Coxiella* (Astobiza, 2012). De acuerdo con un estudio realizado por García-Pérez et al. en 2012, la vacunación en un rebaño altamente infectado no disminuye la concentración de la bacteria excretada ni el número de animales eliminadores tras el primer año post-vacunación. Sin embargo, tras un segundo año de vacunación la infección se ve reducida a niveles mínimos, sobre todo en animales de primer parto. Tras un tercer año de vacunación, la infección permanece en niveles bajos, pero la bacteria sigue encontrándose en el ambiente debido a su elevada resistencia. Todo esto indica que el plan de vacunación frente a esta enfermedad debe plantearse a medio-largo plazo, pudiendo alargarse durante cuatro o cinco años.

En la actualidad, no existe en España una vacuna registrada para el ganado ovino, debiéndose utilizar, por tanto, una vacuna registrada para el ganado bovino y caprino mediante prescripción excepcional, siendo ésta la única vacuna comercial actualmente disponible en nuestro país. Esta vacuna está compuesta por células inactivadas en fase I de la cepa *Nine Mile* (Astobiza, 2012; García-Pérez et al., 2012).

4. TOXOPLASMOSIS

La toxoplasmosis es una enfermedad parasitaria cuyo agente causal es *Toxoplasma gondii*. Se trata de un protozoo intracelular, mundialmente distribuido, que es capaz de infectar a todos los animales de sangre caliente. En el ganado ovino se considera una de las principales causas de abortos (Benavides et al., 2014; Pereira et al., 2005).

En el ciclo biológico de *T. gondii* se diferencian dos fases: una sexual y otra asexual. La fase sexual se corresponde con el ciclo enteroepitelial, en el que intervienen los félidos, los cuales actúan como hospedadores definitivos del parásito. Estos animales liberan ooquistes no esporulados con las heces, que completan su esporulación en el medio ambiente, y podrán ser ingeridos, accidentalmente, por los hospedadores intermediarios, que, en este caso, son todos los animales homeotermos (Pereira et al., 2005). Una vez que los hospedadores intermediarios han ingerido la forma infectante, el parásito pasa a la sangre y se disemina por el organismo en forma de taquizoítos. Cuando el animal infectado comienza a desarrollar una respuesta inmunitaria específica, el parásito forma quistes tisulares en tejido nervioso y muscular. Estos quistes se forman en el interior de las células, donde el parásito se multiplica en forma de

bradizoítos. El ciclo biológico del parásito se cierra cuando un férido ingiere carne o tejido nervioso con quistes tisulares de un hospedador intermediario infectado. Igualmente, los féridos también pueden infectarse al ingerir ooquistes esporulados que han sido expulsados por otro férido infectado (Benavides et al., 2014).

En función de la fase de gestación en la que se encuentren los animales que se infectan por primera vez, se producirán unas consecuencias u otras. Así, si la infección se produce en el primer tercio de gestación, el feto no tiene capacidad de respuesta inmunitaria frente al parásito y se producirá la reabsorción fetal o una expulsión temprana, que suele pasar desapercibida. Si la infección ocurre en el segundo tercio de gestación, el feto ya es capaz de desarrollar una respuesta inmunitaria, que según su grado de desarrollo provocará aborto o el nacimiento de un animal muy débil, que morirá en sus primeros días de vida. En esta fase es común la expulsión de fetos momificados. Por último, los fetos de animales infectados en el último tercio de gestación son inmunocompetentes, por lo que nacerán con una infección subclínica que, generalmente, no tiene consecuencias. Los animales que se infectan pasado el día 120 de gestación pueden dar lugar a corderos no infectados (Pereira et al., 2005).

La aparición de abortos por transmisión del parásito al feto sucede en la primoinfección de ovejas gestantes. Una vez se han infectado, posteriores infecciones no suponen un riesgo de transmisión al feto (Castaño, et al., 2014).

La aparición en el rebaño de fetos momificados o el nacimiento de corderos débiles pueden suponer, acompañados del estudio epidemiológico, una sospecha clínica de toxoplasmosis. Así mismo, el análisis de las lesiones de la placenta puede orientar al diagnóstico presuntivo. La placenta aparece congestionada, con presencia de múltiples focos blanquecinos en los cotiledones y ausencia de engrosamiento y fibrina en la zona intercotiledonaria (Benavides et al., 2014).

Sin embargo, al igual que en todos los procesos abortivos, lo mejor es el diagnóstico laboratorial (Pereira et al., 2005). Entre las técnicas laboratoriales que se utilizan en el diagnóstico de la toxoplasmosis tenemos el examen histopatológico, la inmunohistoquímica, la PCR o las pruebas serológicas como las pruebas de aglutinación o el test ELISA (Benavides et al., 2014; Pereira et al., 2005).

Como se ha citado anteriormente, los ooquistes eliminados en las heces por parte de los gatos constituyen la principal fuente de infección para las ovejas. Teniendo esto en cuenta, la prevención de la infección pasa por limitar el contacto de los gatos con las ovejas en las explotaciones. Por tanto, una medida a adoptar puede ser el impedir a los gatos el acceso a las

camas y los alimentos de las ovejas. Otra actuación que disminuye la transmisión es reducir el número de gatas preñadas y gatos jóvenes en la explotación, dado que estos últimos excretan mayor número de ooquistes. La esterilización de las gatas también puede contemplarse como una opción viable (Chianini y Chiebao, 2014; Pereira et al., 2005).

Otra medida que puede ser de utilidad en la reducción de abortos por toxoplasmosis es el mantenimiento para la cría de aquellas ovejas que han abortado por esta enfermedad. Esta medida se basa en la inmunidad adquirida por el animal tras la primoinfección, la cual protegerá a la oveja de sufrir abortos en futuras gestaciones. De esta forma, se disminuye en la explotación el número de animales susceptibles a abortar. No obstante, no deja de ser una medida controvertida, ya que se mantiene constantemente activa la infección en la explotación. Por otra parte, las placentas y fetos abortados, como en todos los abortos infecciosos, se deben eliminar para evitar la difusión de la enfermedad (Chianini y Chiebao, 2014).

A la vista de la importancia de la inmunidad adquirida en la toxoplasmosis, la vacunación es un método efectivo en la prevención de esta enfermedad. En la actualidad, hay desarrollada una vacuna viva atenuada para controlar los abortos causados por *Toxoplasma*, la cual ha sido utilizada durante años en varios países de Europa y en Nueva Zelanda (Menzies, 2012). Esta vacuna está compuesta por taquizoítos de la cepa S48 de *Toxoplasma gondii*. Su administración es por vía subcutánea en los animales seronegativos tres semanas antes de comenzar el período de cubrición. Esta vacunación induce la inmunidad humoral y la celular, estando involucrados tanto los linfocitos T CD4+ y CD8+ como el IFN- γ . Esta inmunidad vacunal protege frente a los abortos por lo menos durante 18 meses desde la vacunación inicial y no induce la formación de quistes tisulares. Es efectiva tras una sola administración, aunque debe ser repetida a los 2 años. Sin embargo, esta vacuna presenta algunos inconvenientes como el riesgo que supone para el personal que la maneja o su elevado precio. Por todo esto, es necesario seguir avanzando en el desarrollo de vacunas más apropiadas. Actualmente, se está trabajando en vacunas formadas por componentes subcelulares del parásito, como proteínas purificadas de extractos parasitarios, antígenos recombinantes, ADN o ARN (Chianini y Chiebao, 2014; Hiszczyńska-Sawicka et al, 2014.; Menzies, 2012).

5. CAMPILOBACTERIOSIS

La campilobacteriosis es una enfermedad abortiva ocasional, más común en rebaños intensivos en malas condiciones higiénicas y sanitarias. En la etiología están implicadas dos especies: *Campylobacter fetus* subsp. *fetus* y *Campylobacter jejuni* (Mearns, 2007a; Scott, 2007).

La infección de las ovejas se produce vía oral tras la entrada en el rebaño de ovejas portadoras que excretan la bacteria en heces. También se produce excreción bacteriana en las descargas uterinas, fetos abortados y placentas. Por último, se debe tener en cuenta el papel que juegan diversas especies de aves en la transmisión, las cuales actúan como portadores asintomáticos y reservorio de la bacteria (Ferrer y Gil, 2005; Mearns, 2007a).

Cuando los brotes de abortos aparecen, el número de ovejas afectadas puede llegar a alcanzar el 20% en rebaños que se infectan por primera vez. Las ovejas que abortan adquieren una fuerte inmunidad frente a la bacteria, quedando así protegidas frente a los abortos como mínimo en los próximos tres partos (Ferrer y Gil, 2005; Mearns, 2007a; Mobini et al., 2002).

Los abortos producidos en esta enfermedad ocurren en las últimas seis semanas de gestación, apareciendo también corderos débiles al nacimiento. Las hembras abortadas no suelen mostrar signos sistémicos de enfermedad, aunque pueden padecer cuadros digestivos (Mearns, 2007a; Mobini et al., 2002). En este proceso, ni en las placentas ni en las hembras abortadas existen lesiones específicas de la enfermedad. Sin embargo, en los hígados de los fetos abortados se observan, en ocasiones, focos grises de necrosis, lesión característica en este tipo de aborto (Mearns, 2007a).

Para el diagnóstico laboratorial de esta enfermedad se lleva a cabo el examen microscópico directo y el aislamiento de *Campylobacter* spp. a partir de cultivos de la placenta, el contenido abomasal fetal y/o la descarga vaginal. En los casos en los que el cultivo no sea suficiente para el diagnóstico o no sea posible su realización, es posible recurrir a la inmunohistoquímica para demostrar la presencia de antígenos de *Campylobacter fetus* (Mearns, 2007a; Mobini et al., 2002).

Como en todos los casos de abortos infecciosos, la correcta retirada y eliminación del material abortivo y la cama contaminada resulta esencial para evitar la diseminación de la infección (Mearns, 2007a).

Ante la aparición de un brote de abortos producido por alguna de las especies de *Campylobacter*, la antibioterapia aplicada al conjunto del rebaño puede resultar de utilidad a la hora de frenar un brote abortivo, siendo las tetraciclinas los antibióticos de elección, al igual

que en el aborto enzoótico o la fiebre Q (Mobini et al., 2002). Sin embargo, existe una cepa, de la especie *Campylobacter jejuni*, en algunos rebaños ovinos de Estados Unidos que ha mutado, presentando resistencia a las tetraciclinas. Esto supone, por tanto, un problema a la hora de intentar controlar un brote de abortos producido por este germen (Menzies, 2012).

La vacunación frente a esta enfermedad presenta dificultades por las variaciones genéticas de las diferentes cepas de *Campylobacter*, así como por la falta de inmunidad cruzada entre *C. jejuni* y *C. fetus* subsp. *fetus* (Lacasta et al., 2015).

En Europa no existe ninguna vacuna comercializada para ovino frente a los abortos por *Campylobacter* spp., limitándose el control de la enfermedad a la antibioterapia y las medidas higiénicas. No obstante, en Estados Unidos y Canadá existen comercializadas dos vacunas inactivadas de *C. jejuni* y *C. fetus* subsp. *fetus*. En el caso de la vacunas de Estados Unidos sólo una de las dos es eficaz frente a la cepa de *C. jejuni* resistente a las tetraciclinas. Igualmente, existe otra vacuna autorizada en Nueva Zelanda y Australia compuesta por tres cepas de *C. jejuni* y una cepa de *C. fetus* subsp. *fetus* (Lacasta et al., 2015). En todas estas vacunas se recomienda su administración antes de la cubrición, que debe ir acompañada de un recuerdo anual (Menzies, 2012).

6. ENFERMEDAD DE LA FRONTERA (BORDER DISEASE)

La enfermedad de la frontera, también conocida como *Border disease*, es un proceso distribuido de manera mundial. Aunque normalmente no se da como una causa frecuente de abortos, sí que tiene un impacto notable en el rendimiento reproductivo de las explotaciones (Scott, 2007). Esta enfermedad está causada por un pestivirus de la familia *Flaviridae*. Este virus posee relaciones antigénicas con el virus de la Diarrea Vírica Bovina (BVD) (García-Pérez et al., 2000).

En el rebaño, los animales que se ven afectados solamente van a padecer una infección transitoria, acompañada de un ligero cuadro febril y leucopenia, desarrollando después una respuesta inmune suficiente para evitar abortos posteriores (Ferrer y Gil, 2005).

Al igual que en otros procesos, dependiendo del momento en el que se produce la infección de las ovejas gestantes los fetos van a verse afectados de una forma u otra. Al principio de la gestación el virus puede provocar muerte fetal y reabsorción, sin más signos que una leve descarga uterina, pasando prácticamente desapercibido. Si la infección ocurre a mitad de gestación, siendo más frecuente alrededor del día 90, el resultado va a ser el aborto, y con una apariencia frecuentemente momificada. No obstante, en esta fase de la gestación, los fetos pueden desarrollar inmunidad, superando de esta forma la infección pero

presentando una viremia persistente. Estos corderos van a ser los llamados persistentemente infectados (PI). Si la infección se produce al final de gestación va a dar como resultado el nacimiento de corderos pequeños y débiles que no suelen superar el período neonatal. Algunos corderos de los nacidos vivos pueden presentar alteraciones congénitas como convexidad en los huesos frontales, lordosis, cifosis, escoliosis o extremidades cortas y finas con una incompleta extensión de carpos. Otras alteraciones, que comúnmente se presentan, son hipoplasias a nivel de cerebro o la aparición de mechones de pelos largos e hiperpigmentados (Ferrer y Gil, 2005; Scott, 2007).

El diagnóstico clínico, en el caso de que se produzca el nacimiento de corderos con las lesiones características de la enfermedad descritas anteriormente, suele ser muy orientativo. Sin embargo, en algunos brotes estos animales no aparecen, pasando por tanto desapercibido el cuadro. En el diagnóstico laboratorial se realizan diversas técnicas, como el análisis anatómico del sistema nervioso central, el aislamiento del virus, la demostración de la presencia del antígeno mediante técnica de inmunofluorescencia directa, ELISA o PCR (Ferrer y Gil, 2005).

Las medidas preventivas de bioseguridad son imprescindibles para evitar la entrada del virus en una explotación, además, todo animal que entre nuevo debe ser evaluado. En el caso de que la enfermedad se encuentre de forma endémica en una explotación, el principal riesgo para la infección se encuentra en los animales persistentemente infectados. Para evitar su presencia, éstos deben ser identificados y eliminados del rebaño, y no dejar ninguno de ellos para reposición (Mearns, 2007b).

Las vacunas frente a esta enfermedad siguen desarrollándose, no existiendo en la actualidad ninguna comercializada para el ganado ovino. Para controlar la enfermedad de la frontera, la vacuna ideal a desarrollar debe contener antígenos del virus *Border* y del virus tipo 1 de la diarrea vírica bovina. Esto es debido a que los dos virus no son altamente específicos y se pueden dar infecciones cruzadas entre ovino y vacuno (Elvira et al., 2017). Esta vacuna debe ser administrada antes de la cubrición para evitar la infección transplacentaria y proteger al feto. En el pasado se llegó a comercializar una vacuna inactivada con las cepas mencionadas, pero no se encuentra disponible en la actualidad. Por otra parte, las vacunas comercializadas para BVD en vacuno, aunque en algunos casos parecen haber ofrecido resultados de eficacia o protección moderados, deben utilizarse con precaución, ya que no existen datos de seguridad sobre su uso en el ganado ovino (Menzies, 2012).

7. BRUCELOSIS

En el ganado ovino la Brucelosis está ocasionada, exclusivamente, por dos bacterias: *Brucella melitensis* y *Brucella ovis*, siendo capaces ambas de producir abortos. La diferencia entre estas dos bacterias es que *B. ovis* presenta tropismo por el aparato genital masculino causando la epididmitis contagiosa ovina, mientras que *B. melitensis*, lo tiene por el femenino. Además, esta última, puede afectar al ser humano causándole las denominadas Fiebres de Malta (Ferrer y Gil, 2005).

La excreción de la bacteria se produce, principalmente, en el momento del parto o el aborto de las ovejas afectadas. Consecuentemente, la principal vía de infección de esta enfermedad es la vía oronasal, bien a través de la ingestión de material contaminado o bien mediante la inhalación de aerosoles contaminados. La bacteria también es excretada en la leche, e incluso *B. melitensis* puede ser excretada a través del semen, por lo que la transmisión por vía venérea no debe descartarse (Blasco, 2004).

Cuando la enfermedad aparece por primera vez en la explotación la presentación de los abortos es muy importante, sucediendo, principalmente, en el último tercio de gestación. Si la infección ocurre en una fase temprana de la gestación los fetos morirán y serán reabsorbidos, mientras que si ésta se produce al final de la gestación se verán partos normales o corderos prematuros y débiles (Ferrer y Gil, 2005).

En cuanto al diagnóstico de esta enfermedad es posible realizar técnicas directas como el aislamiento e identificación de la bacteria a partir de muestras de placenta, fetos abortados y flujos vaginales. Existen, también, técnicas indirectas como la prueba Rosa de Bengala y la Fijación de Complemento que se realizan sobre sueros maternos (Muñoz y Blasco, 2014).

Para el control de esta enfermedad hay que distinguir entre *B. melitensis* y *B. ovis*. En España, la primera es objeto de un programa de control y erradicación oficial, al tratarse de una zoonosis, mientras que *B. ovis* no está sujeta a ningún control oficial específico. En la mayor parte de las Comunidades Autónomas, tras la instauración de dicho programa la enfermedad ha sido prácticamente erradicada. En la actualidad, la vacunación no está permitida con el fin de no interferir en el diagnóstico (Muñoz y Blasco, 2014).

La vacuna utilizada durante muchos años para *B. melitensis* fue la vacuna atenuada *Rev-1*, que tenía una aplicación conjuntival o subcutánea. Era administrada a los machos y a las hembras de reposición de 3 ó 4 meses de edad en las estrategias de control a largo plazo. La razón de este tipo de actuación es que si todas las hembras de reposición se vacunan cada año, en un plazo de 4 a 6 años todas las hembras de la explotación estarán inmunizadas

(Lacasta et al., 2015). Sin embargo, esta vacuna presentaba ciertos inconvenientes, como la virulencia que supone para los humanos, la inducción de abortos y posterior excreción bacteriana en leche en ovejas gestantes o la interferencia en el diagnóstico serológico. Para solventar el último inconveniente, es necesario el desarrollo y la comercialización de vacunas que no interfieran en el diagnóstico serológico. Ejemplos de estas vacunas incluyen la cepa B115 de *B. mellitensis* o la vacuna quimera BLSOmp 31 (Menzies, 2012).

Además de todas estas causas infecciosas escritas, existen otras causas infecciosas de abortos que, al no tener ni tanta incidencia ni posibilidades de prevención vacunal, no van a tratarse en el presente trabajo.

2. JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS

Los abortos suponen en la ganadería ovina uno de los principales problemas a abordar por parte del ganadero y el veterinario, debido a su repercusión económica y sanitaria. Teniendo en cuenta las circunstancias actuales del sector ovino, en el que se trabaja con unos márgenes económicos muy ajustados, la presencia de problemas abortivos puede llegar a suponer la falta de viabilidad de la explotación (Sancho, 2013). En las explotaciones, el ganadero realiza un gasto por cada oveja que espera recuperar con la producción de corderos. Por tanto, si una oveja aborta, el dinero invertido en ese animal ya no se va a recuperar. Tomando una media de 1,2 partos por oveja y año para las explotaciones de ovino de carne de Aragón (Pardos y Fantova, 2007) y conociendo el coste de producción total anual de una oveja, situado en 79,26 € según los estudios de costes y rentas de las explotaciones agrarias (ECREA, 2014), se puede deducir que el gasto mínimo de un aborto se sitúa alrededor de los 66 €. Éste será el gasto mínimo, sin contar con otros gastos derivados, como los tratamientos o los servicios veterinarios. Es por esta razón que el desarrollo y la puesta en marcha de medidas de prevención y control suponen la piedra angular de la rentabilidad de las explotaciones (Lacasta et al., 2015). Estas medidas sirven para lograr diversos propósitos como son la reducción de las pérdidas económicas derivadas de las enfermedades, la mejora de la producción y la minimización de los efectos de la enfermedad sobre el bienestar animal (Menzies, 2012). Hoy en día, los ganaderos son más conscientes de ello, y cada vez más trabajan con protocolos bien definidos (Sancho, 2013).

Existen diversos productos y alternativas para un mismo agente infeccioso a la hora de afrontar un problema abortivo (Lacasta et al., 2015; Menzies, 2012). Es por esta razón que puede resultar interesante conocer las tendencias de los principales agentes infecciosos en función del protocolo elegido por cada ganadero.

Los objetivos de este trabajo son:

- a. Conocer los principales métodos de prevención y control frente a los problemas abortivos en el ganado ovino de Aragón.
- b. Comparar la eficacia que presentan estos métodos de prevención y control en las explotaciones ganaderas analizadas.
- c. Valorar si la aplicación de estos métodos es realmente eficaz en el control y la prevención de la patología abortiva.

3. MATERIAL Y MÉTODOS

Para la realización de este Trabajo Fin de Grado se han analizado varios listados obtenidos de la base de datos de la empresa Gabinete Técnico Veterinario S.L. de Zaragoza (GTV). Los listados utilizados han sido: explotaciones con avisos por problemas de abortos, manejos de vacunación frente a *Chlamydophila abortus* y *Salmonella abortus ovis* y manejos de vacunación frente a *Chlamydophila abortus*.

Por otro lado, se han utilizado los resultados microbiológicos de las analíticas realizadas desde el año 1997 por el Laboratorio Agroalimentario de Aragón, procedentes de las distintas muestras tomadas en las explotaciones ganaderas implicadas en el estudio, en las que hubo problemas de abortos. Se han tenido en cuenta tanto la especie animal en la que se produjo el brote, siendo la ovina el objeto de estudio, debido al escaso número de caprinos, como las muestras analizadas, que principalmente han sido hisopos vaginales, sueros sanguíneos y muestras de tejido procedentes tanto de placenta como de feto. Por otra parte, las técnicas diagnósticas llevadas a cabo por el laboratorio fueron el aislamiento bacteriano, la tinción de Stamp y la PCR.

Para la clasificación y codificación de los datos se ha empleado el programa Microsoft Office Excel 2007 y para el estudio estadístico se ha empleado el programa SPSS Statistics 22.0, software estadístico de la empresa IBM.

Para la selección de las explotaciones que entraron a formar parte del análisis de este trabajo, el primer paso llevado a cabo fue la revisión de toda la información relativa a los manejos de prevención y control de problemas abortivos realizados en las explotaciones ganaderas. A continuación, se procedió a seleccionar aquellas explotaciones en las que se habían realizado pautas de tratamiento y prevención de manera regular, quedando descartadas aquellas en las que no se respetaban las pautas de aplicación o cuyas pautas no

perduraban lo suficiente en el tiempo. El criterio para formar parte del estudio fue el mantenimiento en las explotaciones de una pauta vacunal de mínimo cuatro años.

Las explotaciones seleccionadas fueron 33, de un total de 76 explotaciones revisadas. Tras esta selección, el siguiente paso fue la clasificación de dichas explotaciones de acuerdo al tratamiento empleado. De esta forma, las explotaciones se clasificaron en tres grupos diferentes:

- Grupo de vacuna viva: explotaciones que siguieron una pauta vacunal con una vacuna viva atenuada frente a *Chlamydophila abortus*, aplicada a sus lotes de reposición. Forman parte de este grupo 13 explotaciones.
- Grupo de vacuna muerta: explotaciones que siguieron una pauta con vacuna inactivada frente a *Chlamydophila abortus* y *Salmonella abortus ovis*, aplicada en sábana en el rebaño. Dentro de este grupo se incluyen 12 explotaciones.
- Grupo de tratamiento combinado: explotaciones que combinaron una pauta de vacunación sobre los lotes de reposición con vacuna viva y la aplicación de vacuna inactivada en sábana sobre el rebaño durante los primeros años. Este grupo consta de 8 explotaciones.

Una vez se recopiló toda esta información, ésta se recogió y codificó mediante el programa informático Microsoft Office Excel 2007.

Toda la información obtenida se integró en una matriz estadística del programa SPSS Statistics 22.0, con el fin de poder evaluar la presencia o ausencia de los agentes abortivos implicados en cada caso a lo largo del tiempo, tras la aplicación de los distintos métodos de prevención y control utilizados. Para ello se tuvieron en cuenta los resultados microbiológicos procedentes de las muestras tomadas de varios casos de abortos obtenidos de cada explotación seleccionada, tanto antes como después de la aplicación de los distintos tratamientos.

En el análisis estadístico, con el fin de obtener la máxima información posible, las variables incluidas en el estudio fueron:

- Explotación ganadera.
- Especie animal: ovina/caprina.
- Fecha de realización del análisis.
- Tipo de muestra analizada: hisopo vaginal/suero sanguíneo/ tejido de placenta o feto.

- Tratamiento aplicado: vacuna viva atenuada/vacuna inactivada/tratamiento combinado.
- Momento de realización del análisis: anterior al comienzo del tratamiento/posterior al comienzo del tratamiento.
- Fase de tratamiento: fase previa (años anteriores y primer año de tratamiento)/tratamiento instaurado (segundo año de tratamiento y posteriores).
- Resultados de las muestras: sin identificación de patógenos/identificación de patógenos abortivos (*Chlamydomphila abortus*, *Coxiella burnetii*, *Toxoplasma gondii*, *Salmonella* spp., *Campylobacter* spp. y *Brucella* spp.)

En la variable del momento de realización del análisis, aquellos análisis efectuados con posterioridad al comienzo del tratamiento, pero durante el mismo año de su inicio, se contabilizaron como “anteriores” si el tratamiento aplicado en la explotación fue una vacuna viva atenuada, ya que con este tipo de vacuna la vacunación, normalmente, se realiza solamente sobre los animales de reposición, por lo que la mayoría del rebaño continúa susceptible durante el primer año de tratamiento.

Para establecer si existían diferencias significativas en las variables estudiadas, éstas se analizaron mediante pruebas no paramétricas de Chi-cuadrado, a través de tablas de contingencia. Se asumió como significativo un resultado con un valor de p menor a 0,05. En el caso de que en las tablas de contingencia hubiera una muestra inferior a 5, se utilizó el valor dado por la prueba exacta de Fisher. En los casos en los que fue posible, se calculó el riesgo relativo (tablas 2x2). De acuerdo a su valor, la variable analizada se consideró factor protector cuando su resultado fue inferior a 1 y factor de riesgo cuando fue superior a 1. Para calcular el valor del factor protector se realizó la inversa del valor del riesgo estimado.

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

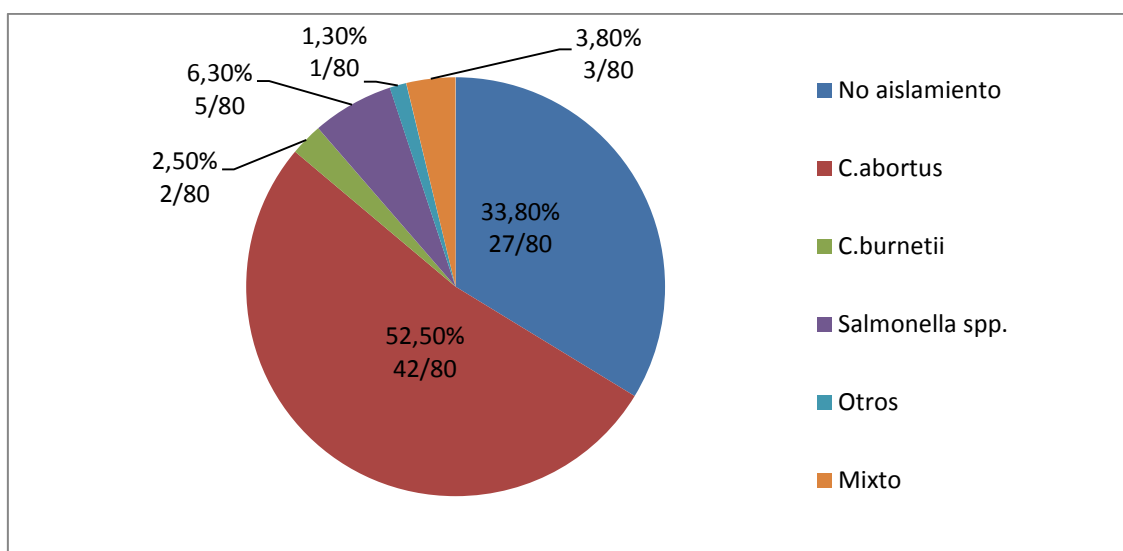
4.1. RESULTADOS GENERALES

Este estudio comprende un total de 341 muestras. De estas muestras, 80 fueron tomadas previamente al comienzo de los tratamientos de control y prevención y 241 fueron recogidas con posterioridad al inicio de dichos tratamientos.

El trabajo ha incluido resultados de un total de 6 patógenos diferentes: *Chlamydomphila abortus*, *Coxiella burnetii*, *Salmonella* spp., *Toxoplasma gondii*, *Campylobacter* spp. y *Brucella* spp., siendo los tres últimos incluidos de forma conjunta en el apartado de “otros”. También se han incluido los resultados de muestras en las que no se ha detectado ningún agente.

4.1.1. Resultados microbiológicos anteriores a la instauración de tratamientos

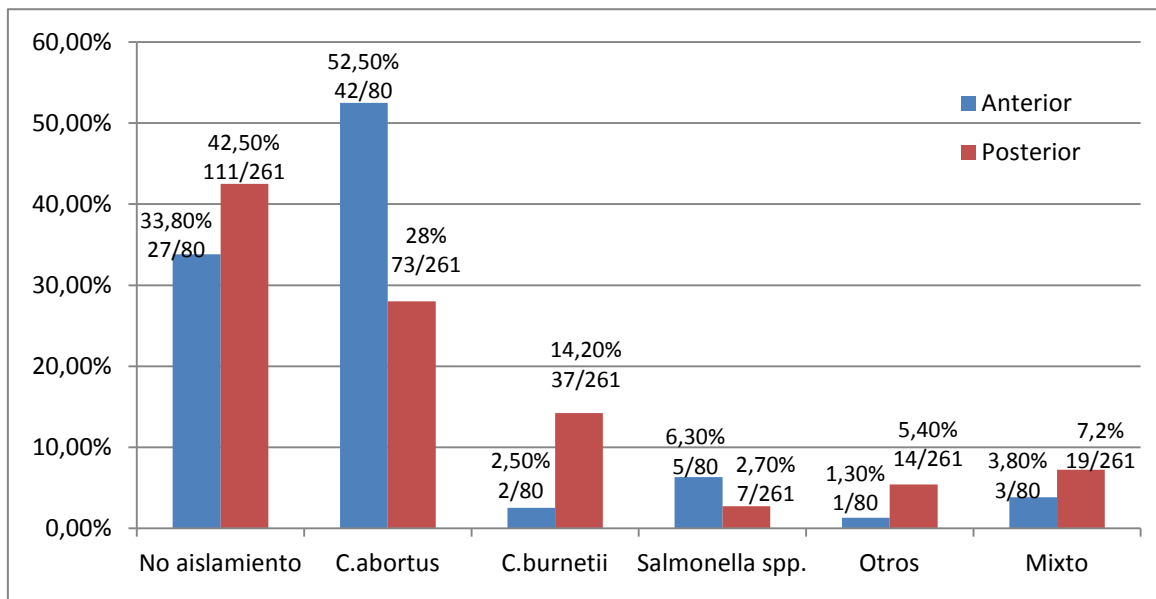
Al analizar los resultados obtenidos en el período anterior a la instauración del tratamiento (Gráfica 1), el agente etiológico identificado con mayor frecuencia fue *C. abortus* (52,5%), seguido de *Salmonella* spp. (6,3%) y de *C. burnetii* (2,5%). Del total de muestras analizadas, el 3,8% correspondieron a muestras positivas a dos o más agentes, siendo de nuevo *C. abortus* el patógeno más observado en ellas. En el 33,8% de las muestras analizadas no se aisló ningún microorganismo, estando definida esta situación en el presente trabajo como “no aislamiento”.



Gráfica 1: presencia de los diferentes agentes abortivos en el período anterior a la instauración del tratamiento.

4.1.2. Resultados microbiológicos posteriores a la instauración de tratamientos

Los resultados obtenidos de las muestras procedentes del período posterior al comienzo del tratamiento revelaron cambios respecto a las muestras anteriores (Gráfica 2). El agente abortivo que más se identificó siguió siendo *C. abortus*, aunque pasó a encontrarse en un 28% de las muestras. También sufrió una reducción el aislamiento de *Salmonella* spp., pasando a encontrarse en un 2,7% de las muestras. El número de muestras sin aislamiento aumentó hasta representar el 42,5% de los resultados. Respecto a *C. burnetii*, ésta vio incrementada su presencia hasta observarse en un 14,2% de las muestras. Las identificaciones de más de un patógeno también aumentaron, encontrándose en un 7,2% de las muestras.



Gráfica 2: presencia de los diferentes agentes abortivos antes y después de la instauración de un tratamiento de control de abortos.

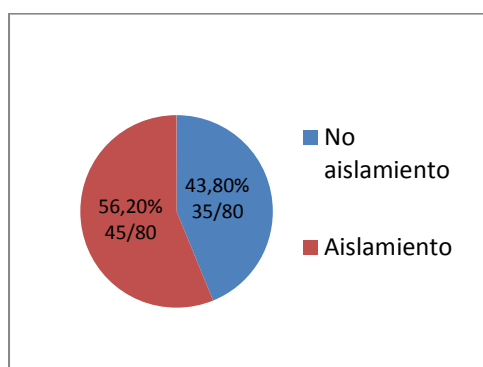
El patógeno encontrado en pureza con mayor frecuencia sobre el total de las muestras analizadas, independientemente del momento en el que se produjo el aborto, fue *C. abortus* (33,7%), seguido de *C. burnetii* (11,4%), coincidiendo con los resultados obtenidos por Esnal et al. en 2010. No obstante, en este estudio se revelaba una alta prevalencia de abortos de etiología mixta (35,4%), mientras que en este trabajo los aislamientos de más de un agente abortivo resultaron escasos, no superando el 7%.

Como puede observarse en los resultados obtenidos, *C. abortus* es el principal patógeno causante de cuadros abortivos en las granjas estudiadas, coincidiendo con los resultados de estudios realizados por otros autores y en distintas zonas geográficas (Ferrer y Gil, 2005; Ramos, 2005). Es por ello que, dada su gran relevancia, los tratamientos aplicados con mayor frecuencia a nivel de campo van dirigidos a controlar este agente. Así pues, en los resultados que se detallan a continuación, el análisis de las variables girará en torno a este germen.

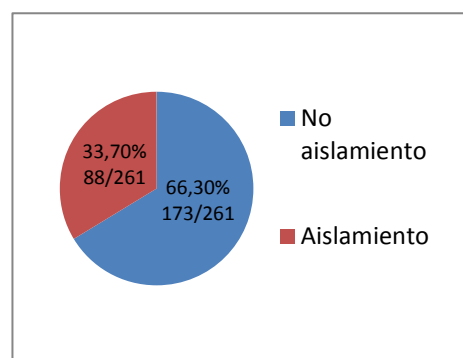
4.2. VALORACIÓN DE LOS TRATAMIENTOS

Al estudiar la presencia de *Chlamydophila* en función del momento del estudio, es decir, antes o después de instaurar un tratamiento de control, se observaron diferencias significativas ($p < 0,001$) entre los grupos, identificándose el agente 2,5 veces menos tras la instauración de un tratamiento de control, y considerándose además la variable tratamiento como un factor protector.

Como se puede ver en la gráfica 3, en el período anterior al comienzo del tratamiento las muestras positivas a *C. abortus* son superiores a las muestras en las que el germen se encuentra ausente (56,2% vs. 43,8%). No obstante, cuando se analizó el momento posterior al comienzo del tratamiento (gráfica 4), las muestras en las que se detectó la presencia de *C. abortus* se redujeron al 33,7%. Esta reducción de muestras positivas a *C. abortus* tras instaurar un método de prevención y control concuerda con los resultados aportados por Caro et al. en un estudio realizado en el año 2013, en el cual los casos positivos a *C. abortus* también resultaron menores en aquellos animales que habían sido sometidos a un tratamiento de prevención y control.

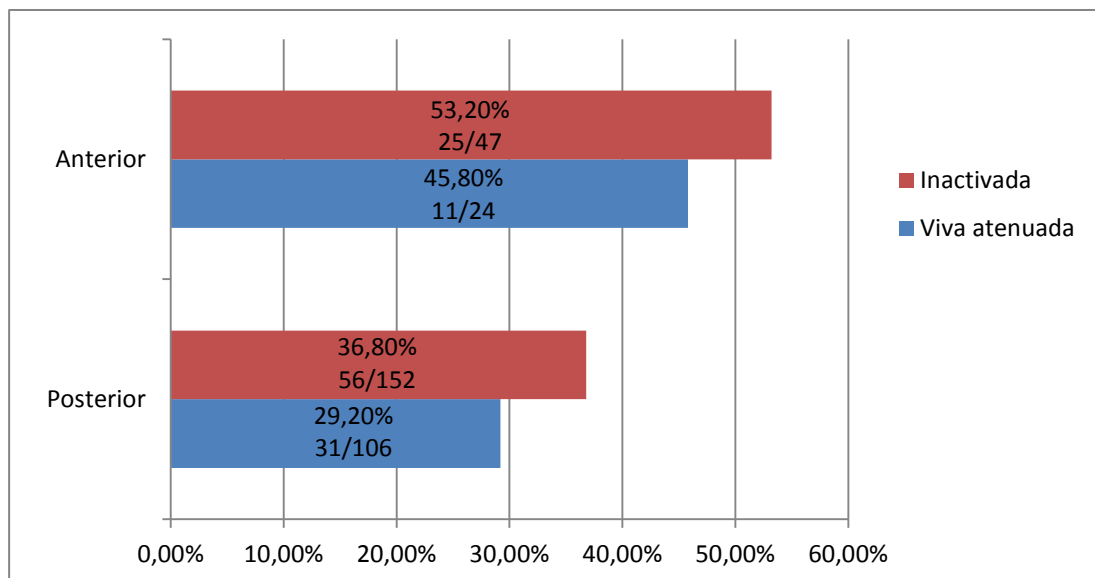


Gráfica 3: presencia de C. abortus en muestras anteriores a la instauración de un tratamiento preventivo.



Gráfica 4: presencia de C. abortus en muestras posteriores a la instauración de un tratamiento preventivo.

Entrando a valorar el tipo de tratamiento instaurado en las explotaciones, en concreto la vacunación con vacuna inactivada frente a *C. abortus* y *S. abortus ovis* y la vacunación con vacuna viva atenuada para *C. abortus*, el análisis estadístico no mostró diferencias significativas entre ambos tratamientos ($p > 0,05$) en relación a la reducción de muestras positivas a *C. abortus*, habiendo una reducción de 16,4% en explotaciones con vacuna inactivada y una reducción de 16,6% en explotaciones con vacuna viva atenuada. Esta falta de diferencias entre ambas vacunas difiere con los resultados aportados por Salinas et al. en un estudio de 2001, donde la protección inducida por la vacuna viva atenuada era mayor que la inducida por la vacuna inactivada.

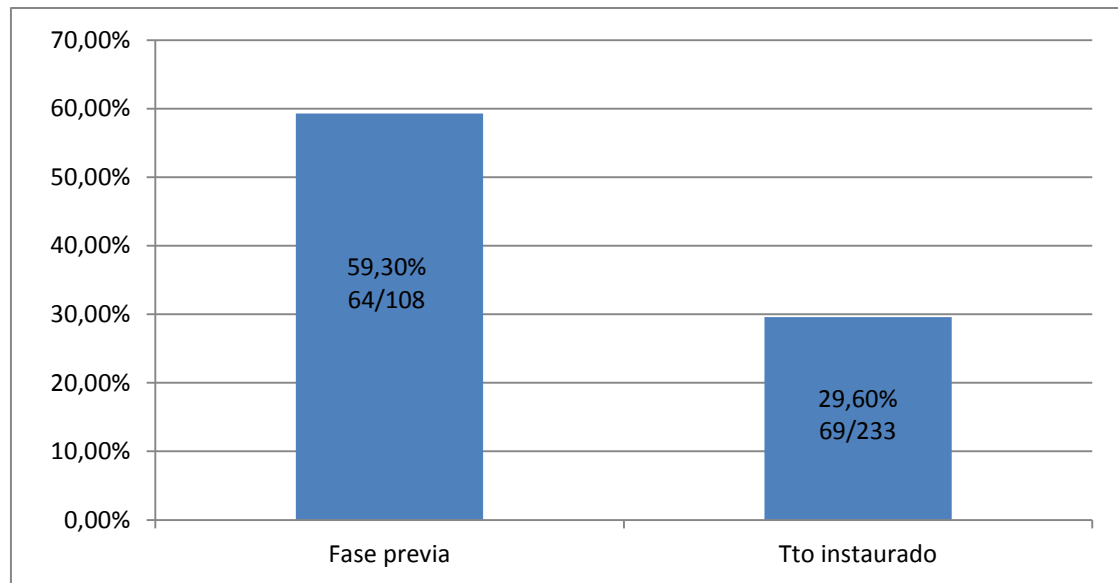


Gráfica 5: presencia de C. abortus en relación al momento de análisis y al tipo de tratamiento.

4.2.1. Valoración de la efectividad a lo largo del tiempo

Otro aspecto objeto de estudio en este trabajo fue el análisis de la influencia de los dos tratamientos aplicados en la presencia de *C. abortus* en función del tiempo transcurrido desde la instauración del tratamiento. En los resultados se encontraron diferencias significativas ($p < 0,001$) en el número de identificaciones de *C. abortus* entre la fase previa y el tratamiento instaurado (Gráfica 6), siendo el riesgo de detectar clamidias 3,5 veces superior en muestras tomadas durante la fase previa y considerándose la variable del tratamiento instaurado como un factor protector. Estos resultados revelan que la vacunación prolongada en el tiempo disminuye el número de aislamientos de *C. abortus*.

Dado que la vacunación permite a los animales desarrollar una respuesta inmunológica que los proteja de la infección (Martin, 2006), al vacunar año tras año se reducirán los brotes de abortos. Teniendo en cuenta que en el aborto clamidial se expulsan al medio gran cantidad de bacterias (Salinas et al., 2014), al reducirse los brotes de abortos se reducirá también la carga bacteriana de la explotación, lo que lleva, tal y como se ha visto en la gráfica 6, a una reducción significativa del número de casos positivos a *C. abortus* con el paso del tiempo.



Gráfica 6: presencia de *C. abortus* en relación a la fase de tratamiento.

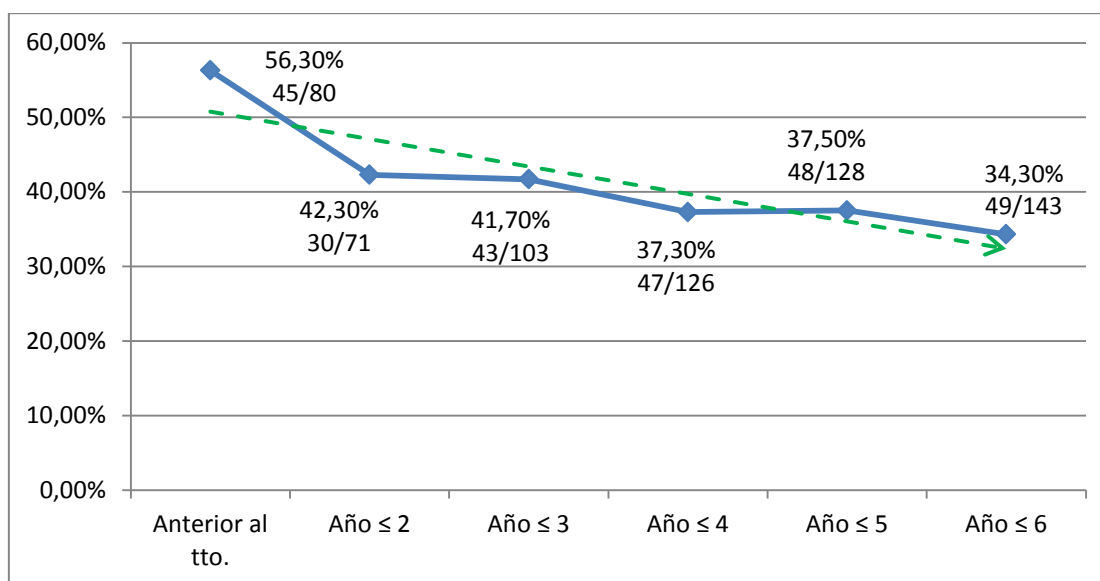
Para estudiar mejor el efecto del tratamiento en función del tiempo transcurrido, se analizó la presencia de *C. abortus* desglosando la fase de tratamiento instaurado en años naturales, realizando un análisis acumulado de los mismos y comparándolos con la fase anterior al inicio del tratamiento para encontrar diferencias (gráfica 7).

Desde la fase anterior al comienzo del tratamiento hasta el segundo año tras la instauración del mismo, la presencia de *C. abortus* disminuyó de un 56,3% a un 42,3%, no encontrándose diferencias significativas respecto a la fase anterior del inicio del tratamiento ($p > 0,05$). Tras tres años desde el inicio del tratamiento, el aislamiento se redujo a 41,7%, no habiendo diferencias significativas respecto a la fase anterior al inicio del tratamiento ($p > 0,05$). Tras cuatro años, las diferencias resultaron significativas ($p < 0,05$), con un 37,3% de las muestras positivas a *C. abortus*, siendo el riesgo de detectar clamidias 2 veces menor. En la identificación de *C. abortus* tras los cinco primeros años del inicio de tratamiento se vieron diferencias significativas ($p < 0,05$) respecto al momento anterior al comienzo del tratamiento, siendo el riesgo de detectar el germen 3,7 veces menor. Tras seis años, la presencia de *C. abortus* volvió a reducirse hasta 34,3%, habiendo otra vez significación ($p < 0,05$), siendo el riesgo de detectar el agente 2,5 veces menor tras los seis años.

Los resultados plasmados en la gráfica 7 revelan, por tanto, una reducción en la identificación de *C. abortus* de un 42,3% en los dos primeros años, a un 34,3% tras seis años desde el inicio del tratamiento.

Esta tendencia a la reducción de casos positivos a *C. abortus* tras la vacunación era esperada, puesto que esta medida de control resulta la más efectiva frente al aborto enzoótico

(Ramos, 2005) y coincide con diversos estudios como el realizado por Ortega et al. en 2003 o el realizado por Álvarez et al. en 2015, en los que también se presentó una tendencia a la reducción de casos positivos a *C. abortus* tras instaurar la vacunación.



Gráfica 7: evolución de la presencia de *C. abortus* a lo largo de los años de vacunación. Estudio de los datos acumulados.

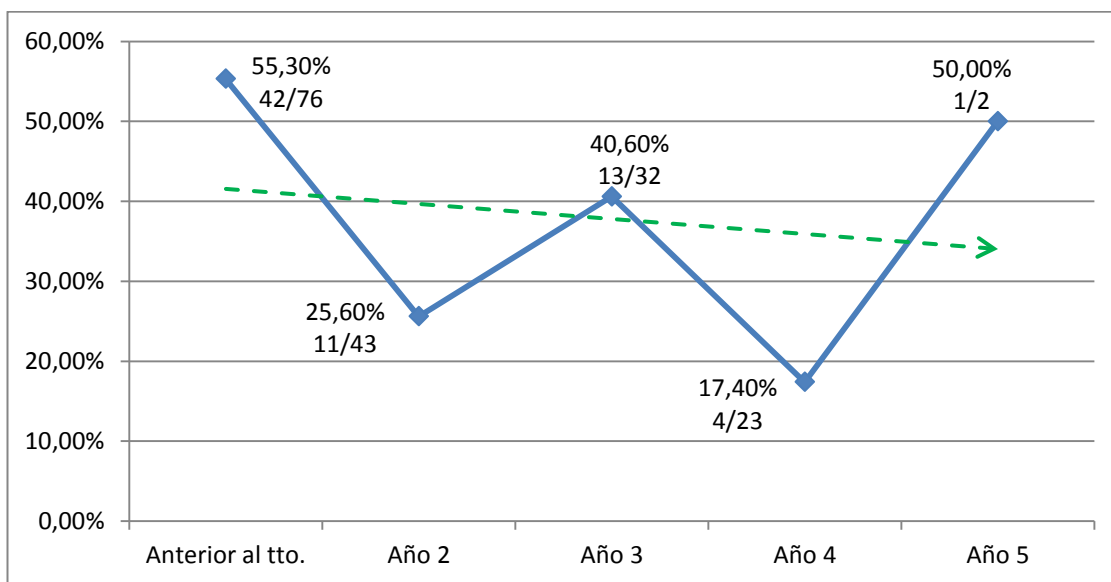
La evolución del efecto que tiene la aplicación del tratamiento en la presencia de *C. abortus* también ha sido analizada teniendo en cuenta cada año de forma individual (gráfica 8).

El porcentaje de muestras positivas a *Chlamydomphila* en el momento anterior al comienzo del tratamiento es de 55,3%. En el segundo año tras el inicio del tratamiento, la presencia se reduce hasta 25,6%, encontrando diferencias significativas ($p < 0,05$) respecto al momento anterior al comienzo del tratamiento, siendo el riesgo de detectar el agente 3,6 veces menor en el segundo año de tratamiento y resultando el tratamiento como un factor protector. En el tercer año, la identificación se sitúa en un 40,6%, no siendo significativo respecto a la fase anterior al tratamiento. El cuarto año la identificación se sitúa en un 17,4%, encontrándose de nuevo diferencias significativas ($p < 0,05$), siendo el riesgo de identificar el germen 5,9 veces menor en el cuarto. Por último, el quinto año presenta un 50% de muestras positivas a *C. abortus*, no encontrándose diferencias significativas respecto al momento anterior al tratamiento ($p > 0,05$).

Estos resultados muestran que las diferencias significativas respecto al momento anterior al inicio del tratamiento no se observan en todos los años, sino que se alternan. También se observa que el año con más diferencia respecto al momento anterior al comienzo del tratamiento es el cuarto año (17,4%). Por el contrario, el quinto año es cuando más casos

positivos se observan (50%). La reducción de los casos positivos no resulta progresiva, puesto que se alternan años con mayor presencia del germen con años que tienen menos aislamientos y en los que el número de muestra es poco representativo.

Al enfrentar los resultados de cada año para comprobar cambios entre ellos, no se encontraron diferencias significativas ($p > 0,05$).

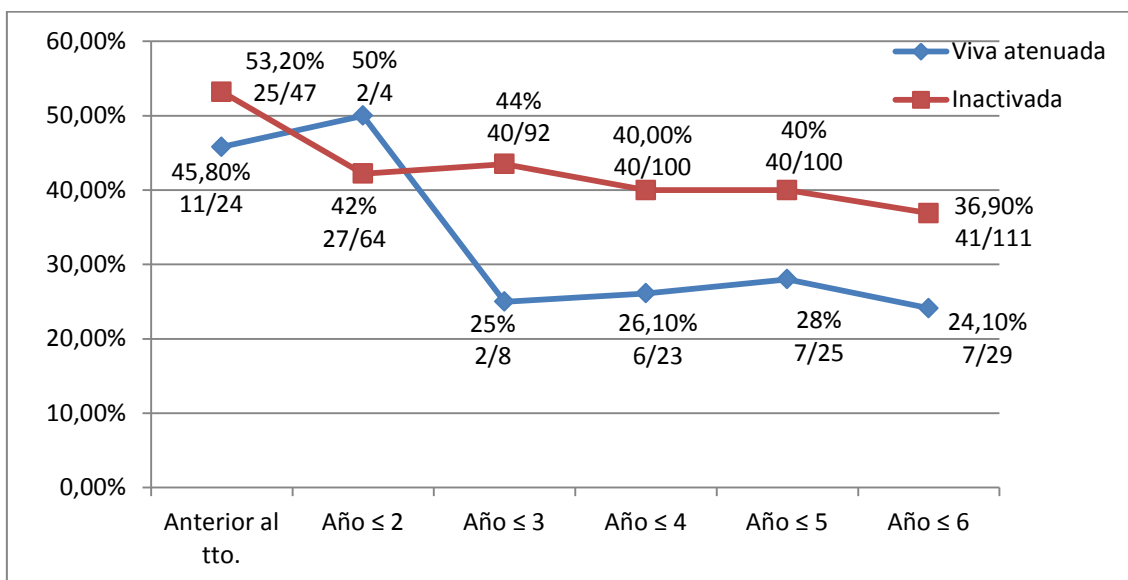


Gráfica 8: evolución de los aislamientos de C. abortus a lo largo de los años de vacunación. Estudio de los datos por años.

Por último, se estudió el efecto, tanto de la vacuna viva atenuada como de la vacuna inactivada (Gráfica 9), sobre la evolución de los casos positivos a *C. abortus* a lo largo del tiempo.

En las explotaciones que emplearon vacuna viva atenuada los casos positivos a *C. abortus* se situaron en un 45,8% en el momento anterior al inicio del tratamiento, mientras que aquellas que utilizaron vacuna inactivada presentaron una identificación positiva del 53,2% en el momento anterior a la instauración del tratamiento. Tras los dos primeros años de vacunación, el germen se identificó en un 50% de las muestras correspondientes a las explotaciones con vacuna viva atenuada y en un 42,2% de las muestras analizadas de explotaciones con vacuna inactivada. Trascurridos 3 años desde el comienzo de la vacunación, las explotaciones que emplearon la vacuna viva atenuada tuvieron un 25% de muestras positivas a *C. abortus* y en aquellas que emplearon la vacuna inactivada se detectó el germen en un 43,5% de las muestras. Tras 4 años desde el inicio de la vacunación, los casos positivos correspondieron a un 26,1% de las muestras obtenidas de explotaciones con vacuna viva atenuada y a un 40% de aquellas obtenidas de explotaciones con vacuna inactivada. En las

explotaciones que se empleó vacuna viva atenuada, transcurridos 5 años, los casos positivos se observaron en un 28% de las muestras, y tras los 6 años se encontraban en un 24,1% de las muestras. En las explotaciones que empleaban vacuna inactivada, los casos positivos a *C. abortus* se situaron en un 40% transcurridos 5 años y en 36,9% de las muestras tras 6 años desde el comienzo de la vacunación.



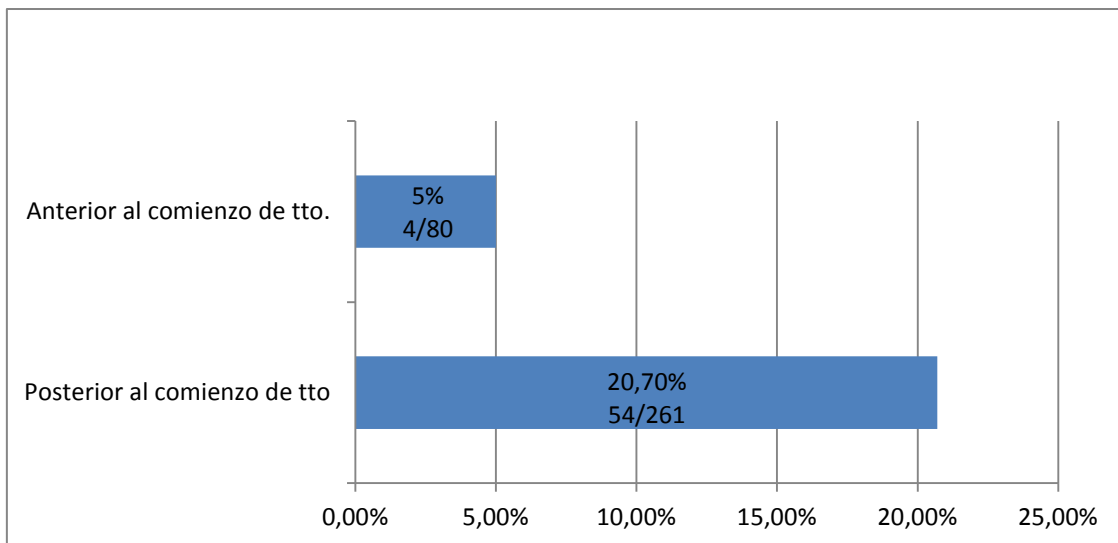
Gráfica 9: evolución de la presencia de C. abortus en el tiempo según el tipo de vacuna empleada.

En cada uno de los años transcurridos, tanto para la vacuna viva atenuada como para la vacuna inactivada, no se encontraron diferencias significativas respecto al momento anterior al inicio de la vacunación. No obstante, al enfrentar los resultados de cada año de la vacuna inactivada, sí que se observó significación ($p < 0,05$). Al comparar el primer año de vacunación con el resto de años, se observaron diferencias significativas respecto al segundo año de vacunación ($p < 0,001$), siendo el riesgo de identificar el germen 6,7 veces menor en el segundo año. También se observó significación entre el primer año y el cuarto año ($p < 0,05$), siendo el riesgo de detectar el agente 2,9 veces menor en el cuarto año. Por último se observaron diferencias significativas ($p < 0,05$) del primer año respecto al sexto año, habiendo un riesgo de detectar el germen de 1,9 veces menos en el sexto año. Al comparar el segundo año con el tercero se observaron diferencias significativas ($p < 0,05$), siendo el riesgo de identificar el agente 3 veces menor el tercer año. Por último, al enfrentar los resultados del tercer año y el cuarto año, se observó significación ($p < 0,05$), siendo el riesgo de detectar el agente 1,9 veces menor el cuarto año.

4.3. RESULTADOS DE COXIELLA BURNETII

Coxiella burnetii ha sido el otro patógeno que se ha tratado en el presente trabajo de forma individual, dada la importancia que ha presentado, ya que ha sido el segundo agente más identificado en las explotaciones estudiadas. Se encontraron diferencias significativas ($p < 0,05$) entre su identificación en el momento anterior a la instauración del tratamiento de prevención y control y el momento posterior a éste, habiendo un riesgo de detectar *C. burnetii* 5 veces mayor tras la instauración del método de prevención y control frente a *C. abortus*. En las muestras tomadas antes de iniciar los tratamientos, la presencia de *Coxiella* era de un 5%, pero tras la instauración del tratamiento la presencia aumentó hasta encontrarse en un 20,7% de las muestras analizadas.

El hecho de instaurar un tratamiento de prevención y control frente a *C. abortus* reduce la presencia de dicho germen en las explotaciones, tal y como se ha visto en el presente trabajo. Al reducir la presencia de este agente, su importancia relativa en el total de agentes involucrados en los cuadros abortivos disminuye, haciendo que la importancia relativa de otros agentes como es el caso de *C. burnetii* aumente, tal y como refleja la gráfica 10.



Gráfica 10: presencia de *C. burnetii* en relación al momento de análisis.

5. CONCLUSIONES

- I. En el período de tiempo previo a la instauración de cualquier pauta de control de abortos, el agente abortivo identificado en pureza en más ocasiones fue *Chlamydophila abortus*, seguido de *Salmonella* spp. A su vez, *Chlamydophila abortus* fue el germen que en más ocasiones se presentó en los aislamientos de dos o más patógenos.
- II. La instauración de un programa preventivo y de control frente a los problemas abortivos en las explotaciones estudiadas consiguió una reducción en la frecuencia de identificación de *C. abortus* en los rebaños.
- III. El estudio estadístico de la aplicación de una vacuna viva atenuada o una vacuna viva inactivada no ha revelado diferencias significativas entre ambos tratamientos respecto a la detección de *C. abortus* en las muestras recogidas en las explotaciones analizadas.
- IV. La frecuencia de identificación de *Coxiella burnetii* aumentó tras la instauración de un método de prevención y control frente a *C. abortus* en las explotaciones analizadas.

5.1. CONCLUSIONS

- I. The most frequently abortive agent isolated, previously to the establishment of any control measure in the herds, was *Chlamydophila abortus* in pure isolation, followed by *Salmonella* spp. Furthermore, *Chlamydophila* was the main agent isolated in combination with other pathogens.
- II. The establishment of a preventive and control program against abortive problems in the analyzed farms achieved a reduction in the proportion of isolations of *C. abortus*.
- III. The statistical study of the use of a live attenuated vaccine or an inactivated vaccine did not revealed significant differences between both treatments regarding the reduction in the proportion of *C. abortus* isolation in the analyzed farms.
- IV. An increase in the proportion of *C. burnetii* isolations was observed in the analyzed farms after the establishment of a preventive and control treatment against *C. abortus*.

6. VALORACIÓN PERSONAL

El Trabajo Fin de Grado, como última asignatura de la titulación, ha supuesto para mí un desafío y una forma de aprender y evolucionar no solo como estudiante universitario, sino también como futuro profesional veterinario.

En primer lugar, el Trabajo Fin de Grado me ha dado la oportunidad de aplicar de una forma práctica diversos conocimientos que he ido adquiriendo a lo largo de estos cinco años, permitiéndome así tener una visión más cercana a la realidad de lo que supone la ganadería ovina, y en concreto los problemas abortivos que presentan. De esta forma he aprendido más en profundidad respecto al papel que juega el veterinario a la hora de prevenir y controlar este tipo de problemas.

Esta asignatura también me ha permitido aprender en la selección y gestión de la información obtenida. Esta competencia adquirida resulta verdaderamente útil a la hora de la realización del trabajo, puesto que es mucha la información disponible y es totalmente necesario filtrarla adecuadamente para quedarse con aquella que realmente resulta útil. Además, es una capacidad que será de utilidad en mi futuro en la veterinaria, al tratarse de una profesión que requiere un continuo aprendizaje y renovación de conocimientos.

El proceso de obtención de datos que he llevado a cabo en este trabajo ha resultado algo complejo, puesto que los datos de los que disponía no se correspondían del todo con los que en un principio me hubiera gustado. A pesar de ello, con este trabajo he aprendido a sacar el máximo partido al material del que se dispone, adquiriendo además conocimientos en campos como la estadística gracias al empleo de aplicaciones informáticas relacionadas.

7. BIBLIOGRAFÍA

Álvarez, D., Salinas, J., Buendía, A.J., Ortega, N., del Río, L., Sánchez, J., Navarro, J.A., Gallego, M.C., Murcia-Belmonte, A., Cuello, F. y Caro, M.R. (2015). Intratracheal infection as an efficient route for testing vaccines against *Chlamydia abortus* in sheep. *The Veterinary Journal*, 205: 393-398.

Astobiza, I. (2012). Distribución de *Coxiella burnetii* en los rumiantes domésticos y en la fauna silvestre de la Comunidad Autónoma Vasca. Evaluación del efecto del tratamiento antibiótico y de la vacunación en el control de la fiebre Q en rebaños ovinos naturalmente infectados. Tesis doctoral. Universidad del País Vasco. Disponible en http://www.euskadi.eus/contenidos/documentacion/tesis_doctorales/es_agripes/adjuntos/Tesis74.pdf.

Benavides, J., Castaño, P., Ferreras, M.C. y Pérez, V. (2014). Abortos por protozoos. En XXXIX Congreso Nacional y XV Congreso Internacional de la SEOC, Orense, pp. 139-152.

Blasco, J.M. (2004). Estado actual de la Brucelosis en España. *Profesión veterinaria* 15 (58): 22-34.

Cagiola, M., Severi, G., Forti, K., Menichelli, M., Papa, P., De Giuseppe, A. y Pasquali, P. (2007). Abortion due to *Salmonella enterica* serovar Abortusovis (S. Abortusovis) in ewes is associated to a lack of production of IFN- γ and can be prevented by immunization with inactivated S. Abortusovis vaccine. *Veterinary Microbiology*, 121 (3-4): 330-337.

Caro, M.R.; Navarro, J.A.; Ortega, N.; Buendía, A.J.; Gallego, M.C.; del Río, L.; Cuello, F.; Murcia, A., Álvarez, D.; Sanchez, J. y Salinas, J. (2013). Evaluación de la infección experimental con *C.abortus* por las rutas intratraqueal e intranasal como modelos para la validación de vacunas contra el aborto enzoótico ovino. En XXXVIII Congreso Nacional y XIV Congreso Internacional de la SEOC, Málaga, pp. 520-526.

Castaño, P., Fuertes, F., Ferre, I., Fernández, M., Ferreras, M.C., Moreno-Gonzalo, J., González-Lanza, C., Katzer, F., Regidor-Cerrillo, J., Ortega-Mora, L.M., Pérez, V. y Benavides, J. (2014). Abortos de fase aguda en la toxoplasmosis ovina. Caracterización lesional y posible patogenia. En XXXIX Congreso Nacional y XV Congreso Internacional de la SEOC. Orense, pp. 423-428.

Chianini, F. y Chiebao, D. (2014). La toxoplasmosis en el ganado ovino. Disponible en: <http://albeitar.portalveterinaria.com/noticia/13608/articulos-rumiantes-archivo/la-toxoplasmosis-en-el-ganado-ovino.html>. Recuperado el 2/7/2017.

Elvira, L., Fernández, M., Gutiérrez, J., Esnal, A., Benavides, J., Pérez, V., de la Torre, A., Álvarez, M. y Esperón, F. (2017). Detection of Bovine Viral Diarrhoea Virus 2 as the Cause of Abortion Outbreaks on Commercial Sheep Flocks. *Transboundary and Emerging Diseases*, 64 (1): 19-26.

Entrican, G., Wheelhouse, N., Wattedgedera, S.R. y Longbottom, D. (2012). New challenges to vaccination to prevent chlamydial abortion in sheep. *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases*, 35(3): 271-276.

Esnal, A. (2010). Patologías reproductivas en ovino y caprino: la fiebre Q como enfermedad emergente. *Tierras de Castilla y León: Ganadería*, 169: 38-45.

- Esnal, A.; Martín, S.; Palacín, I.; Escobal, I.; Marco, J.; Extramiana, A.B. y Elorriaga, M. (2010). Estudio de la patología abortiva en pequeños rumiantes en España (2007-2010) (I): Análisis etiológico. Tierras de Castilla y León: Ganadería, 173: 13-15.
- Fariñas Guerrero, F. y Zorrilla Delgado, I. (2005). Diagnóstico patológico de los procesos abortivos. En: Guía del aborto ovino, pp.108-131. Salamanca: Laboratorios Intervet, S.A.
- Ferrer Mayayo, L.M. y Gil Berduque (2005). Etiología del aborto ovino. En Guía del aborto ovino, pp. 6-45. Salamanca: Laboratorios Intervet, S.A.
- García-Pérez, A.L., Barandika, J.F., Aduriz, G., Barral, M., Benedicto, L., Moreno, B. y García, J. (2000). Diagnóstico de la enfermedad de Border en dos rebaños ovinos. En XXV Jornadas Científicas y IV Internacionales de la SEOC. Teruel, pp.425-428.
- García-Pérez, A.L., Astobiza, I., Barandika, J.F., Juste, R.A. y Hurtado, A. (2012). Resultados de 3 años de vacunación frente a fiebre Q en 3 rebaños ovinos naturalmente infectados. En XXXVII Congreso Nacional de la SEOC. Ciudad Real, pp.351-356.
- García- Pérez, A. y Astobiza, I. (2014). La fiebre Q, una zoonosis de actualidad. Disponible en: <http://albeitar.portalveterinaria.com/noticia/11812/articulos-rumiantes-archivo/la-fiebre-q-una-zoonosis-de-actualidad.html>. Recuperado el 4/7/2017.
- González, L. (2002). Infección por *Salmonella abortus ovis*. En: Enfermedades de la oveja, pp. 122-127. Zaragoza: Acribia.
- Hiszczyńska-Sawicka, E., Gatkowska, J.M., Grzybowski, M.M. y Długowska, H. (2014). Veterinary vaccines against toxoplasmosis. Parasitology, 141 (11): 1365-1378.
- Lacasta, D., Ferrer, L.M., Ramos, J.J., González, J.M., Ortín, A. y Fthenakis, G.C. (2015). Vaccination schedules in small ruminant farms. Veterinary Microbiology, 181 (1-2): 34-46.
- Longbottom, D., Entrican, G., Wheelhouse, N., Brough, H. y Milne, C. (2013). Evaluation of the impact and control of enzootic abortion of ewes. The Veterinary Journal, 195 (2): 257-259.
- MAGRAMA (Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente), (2014). ECREA (Estudios de Costes y Rentas de las Explotaciones Agrarias). Resultados técnico-económicos Ganado Ovino de Carne Andalucía, Aragón, Castilla y León, Extremadura y Navarra, Año 2014. pp. 14.15.
- Martín, S. (2006). Vacunas y vacunación en los pequeños rumiantes. Pequeños Rumiantes, 7 (3): 12-22.
- Mearns, R. (2007a). Abortion in sheep 1. Investigation and principal causes. In Practice 29: 40-46.
- Mearns, R. (2007b). Abortion in sheep 2. Other common and exotic causes. In Practice 29:83-90.
- Menzies, P.I. (2012). Vaccination programs for reproductive disorders of small ruminants. Animal Reproduction Science, 130 (3-4): 162-172.
- Mobini, S., Heath, A.M. y Pugh, D.G. (2002). Theriogenology of Sheep and Goats. En: Sheep and Goat Medicine, pp.175-186. Philadelphia: W.B. Saunders Company.

- Muñoz, P.M. y Blasco, J.M. (2014). Situación actual de la brucelosis ovina y caprina. Disponible en: <http://albeitar.portalveterinaria.com/noticia/13508/articulois-rumiantes-archivo/situacion-actual-de-la-brucelosis-ovina-y-caprina.html>. Recuperado el 4/7/2017.
- Navarro, J.A., Buendía, A.J., Caro, M.R., Cuello, F., Del Río, L., Gallego, M.C., Martínez, C.M., Nicolás, L., Ortega, N., Sánchez, J. y Salinas, J. (2006). Abortos de origen infeccioso en los pequeños rumiantes: Aspectos relacionados con la etiopatogenia y el diagnóstico. *Producción Animal*, 224: 4-17.
- Ortega, N., Buendía, A.J. y Salinas, J. (2003). Ensayo de vacunas inactivadas experimentales contra el aborto enzoótico ovino utilizando ratones resistentes a la infección por *Chlamydomphila abortus*. *Anales de veterinaria de Murcia*, 19:109-120.
- Ortega, N., Caro, M.R. y Salinas, J. (2006). Papel de los linfocitos t cd4+ y cd8+ en la protección inducida por diferentes vacunas contra *chlamydomphila abortus*. *Anales de veterinaria de Murcia*, 22: 25-34.
- Pardos, L. y Fantova, E. (2007). Importancia del control de gestión técnico-económico en las ganaderías de ovino de carne. Influencia de los diferentes factores productivos en los resultados económicos. En: *Producción de ovino de carne en medio semiárido*, pp. 17-29. Gobierno de Aragón. Grupo Consolidado de Investigación Aplicada: *Mejora de la Producción Ovina*, Zaragoza.
- Pereira-Bueno, J., Collantes-Fernández y E., Álvarez-García (2005). Toxoplasmosis en el ganado ovino y caprino: Epidemiología, diagnóstico y control. En: *Guía del aborto ovino*, pp. 46-83. Salamanca: Laboratorios Intervet, S.A.
- Ramos, R. (2005). Inmunología y diagnóstico del aborto enzoótico ovino. *Mundo Ganadero*, nº 182: 33-38.
- Rodolakis, A. y Laroucau, K. (2015). Chlamydiaceae and chlamydial infections in sheep or goats. *Veterinary Microbiology*, 181: 107-118.
- Salinas, J., Álvarez, D., Ortega, N., Buendía, A.J., Del Río, L., Gallego, M.C., Sánchez, J., Navarro, J.A., Cuello, F. y Caro, M.R. (2014). El aborto enzoótico de los pequeños rumiantes. Disponible en: <http://albeitar.portalveterinaria.com/noticia/13691/articulos-rumiantes-archivo/el-aborto-enzootico-de-los-pequenos-rumiantes.html>. Recuperado el 28/6/2017.
- Salinas, J.; Ortega, N.; Caro, M.R.; Buendía, A.J.; Gallego, M.C.; del Río, L. y Cuello, F. (2001). Evaluation of induced protection by commercially available vaccines in Spain against the ovine enzootic abortion/ Evaluación de la protección inducida por vacunas comercializadas en España contra el aborto enzoótico de los pequeños rumiantes. *Congresos y Jornadas. Serie Ganadería Ovino-Caprino-Junta de Andalucía (España)*, pp. 836-841.
- Sancho, J. (2013). Visión actual del problema de los abortos en ovino. *Tierras*, 4: 100-103.
- Scott, P.R. (2007). *Reproductive System: Female Reproductive System*. En: *Sheep Medicine*, pp. 33-71. Londres: Manson Publishing.