



Facultad de Veterinaria  
**Universidad Zaragoza**



# Trabajo Fin de

Autor/es

Director/es

Facultad de Veterinaria

---

# ÍNDICE

<b>RESUMEN</b>	<b>1</b>
<b>ABSTRACT</b>	<b>1</b>
<b>1. INTRODUCCIÓN</b>	<b>2</b>
<b>2. JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS</b>	<b>13</b>
<b>3. METODOLOGÍA</b>	<b>14</b>
<b>4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN</b>	<b>16</b>
<b>4.1 RESULTADOS DEL PROCESO DE DIAGNÓSTICO</b>	<b>16</b>
<b>4.2 RESULTADOS DEL DIAGNÓSTICO DE LOS GÉRMENES</b>	<b>20</b>
<b>5. CONCLUSIONES</b>	<b>29</b>
<b>5.1 CONCLUSIONS</b>	<b>30</b>
<b>6. VALORACIÓN PERSONAL</b>	<b>31</b>
<b>7. BIBLIOGRAFÍA</b>	<b>32</b>

## **RESUMEN**

La patología reproductiva constituye uno de los obstáculos más influyentes en la viabilidad de las explotaciones de ovino y caprino, debido a las repercusiones económicas y sanitarias que acarrea, tanto en los rebaños como en la salud pública. Los abortos ocupan el papel más relevante dentro de estas patologías.

Un estudio retrospectivo de los agentes infecciosos implicados en los procesos abortivos proporciona información relevante acerca de los diferentes gérmenes involucrados, así como su evolución a lo largo del tiempo.

En el presente trabajo, han sido analizados un total de 6.113 informes de casuística de brotes de abortos emitidos por el Laboratorio Agroalimentario del Gobierno de Aragón. De estos informes, el 71,20% (4.352/6.113) presentaron aislamiento de algún germen, mientras que en el 28,80% de los casos (1.761/6.113) no se logró identificar ningún agente infeccioso. El análisis estadístico de estos datos ha puesto de manifiesto tendencias estacionales en el aislamiento de algunos agentes causales, así como diferencias a la hora de obtener un diagnóstico infeccioso positivo en función de la especie, el número de muestras enviadas al laboratorio y el tipo de muestra que fue remitida.

El principal agente involucrado en los procesos analizados fue *Chlamydophila* spp., encontrándose bien en pureza o en infecciones mixtas en el 60,00% de los brotes positivos. El segundo germen aislado con mayor frecuencia fue *Coxiella burnetii*, que se encontró en el 15,00% de los casos analizados, seguido de *Salmonella* spp. con un 10,00% de casuística.

## **ABSTRACT**

Reproductive pathology represents one of the main obstacles for small ruminant flock's viability. Its consequences have a deep effect over the economy and the sanitary status of the farm, but also over public health. Abortions occupy the most relevant role within this group of pathologies.

A retrospective study of the infectious agents involved in abortive processes provides relevant information about the different germs involved, as well as their evolution over time.

In the present study, a total of 6.113 reports of abortion outbreaks issued by the Laboratory have been analyzed. Of these reports, 71,20% (4.352 / 6.113) presented isolation of some germ, whereas in 28,80% of the cases (1.761 / 6.133) no infectious agents could be

identified. Statistical analysis of these data has revealed seasonal trends in the isolation of some of them, as well as differences in obtaining a positive infectious diagnosis depending on the animal species, the number of samples sent to the laboratory and the type of sample that was collected.

The main agent involved in the analyzed processes was *Chlamydophila* spp., being found either in pure or mixed infections in 60,00% of the positive outbreaks. The second most frequently isolated germ was *Coxiella burnetii*, which was found in 15,00% of the cases analyzed, followed by *Salmonella* spp. with 10,00% casuistry.

## **1. INTRODUCCIÓN**

La viabilidad de las explotaciones ovinas y caprinas, depende de la rentabilidad de las mismas. Una de las patologías que más influye en su rentabilidad son los abortos y sus consecuencias, ya no solo económicas, sino también sanitarias, tanto para los rebaños, como para la salud pública, ya que muchos de los agentes etiológicos causantes de abortos en el ganado ovino son potencialmente zoonóticos (Esnal et al., 2010).

Se define como aborto ovino "la interrupción de la gestación, con reabsorción del feto o su inmediata o posterior expulsión, generalmente muerto o afectado por un proceso patológico que le ocasionará la muerte" (Ferrer et al., 2005). En ocasiones es difícil establecer si se trata de un cordero muerto al nacer, es decir de un caso de mortalidad perinatal, o de un aborto. En estos casos de duda resulta de gran utilidad la realización de la necropsia, en la que se puede observar el desarrollo incompleto del feto abortado y anoxia. Si por el contrario se trata de un cordero muerto al nacer, éste se mostrará perfectamente formado, pudiendo mostrar anoxia o no (Mareco, 2009).

En la bibliografía, existen discrepancias en torno a cual es la tasa normal de abortos en el ganado ovino. Mariné en 1983 consideró normal tasas de aborto de entre 4,00% y el 6,00% en las ganaderías ovinas. Datos más recientes, como los presentados por Mareco en 2009, sitúan esta cifra en torno al 2,00%.

Como se ha comentado con anterioridad, los abortos constituyen un punto crítico en la rentabilidad de las explotaciones ganaderas. En Aragón, las explotaciones de ovino de carne obtienen una media de 61,75 € por cordero vendido, sacrificando habitualmente estos animales entorno a los 21-23 kg de peso vivo, con un peso de canal de 8-12,5 kg (MAPAMA, 2014). Ante un problema de abortos es necesaria la actuación veterinaria para la identificación

del proceso y el estudio del agente causal del mismo con un adecuado diagnóstico, para poder establecer los tratamientos y las medidas preventivas oportunas e intentar que no se vuelva a dar este problema en el futuro o, al menos, reducir su incidencia.

De acuerdo al momento de la gestación en el que se producen los abortos, éstos se pueden clasificar en tres grupos: los abortos tempranos son aquellos que se producen entre el día quince y el día sesenta de gestación, los medios se dan entre el día sesenta y el día cien de gestación, y los abortos tardíos entre el día ciento diez y ciento cuarenta de gestación. Es necesario tener en cuenta que, durante los primeros quince días de gestación la pérdida del embrión no se considera aborto, sino que se conoce como pérdida embrionaria y se considera aceptable una pérdida de hasta el 25,00% de los embriones formados (Ferrer et al., 2005).

Así mismo, es posible realizar otra clasificación distinta atendiendo al origen de los abortos. De este modo, se clasifican en abortos de origen no infeccioso, que representan entorno al 10,00-30,00% de los casos, y los abortos de origen infeccioso (Ferrer et al., 2005).

Dentro de los procesos no infecciosos, podemos encontrar anomalías congénitas, que hagan que el feto sea inviable, malformaciones del aparato genital de la madre, aunque estos casos aparecen en una prevalencia muy baja (Ferrer et al., 2005). Los traumatismos durante la gestación también pueden ser un problema importante, especialmente en el último tercio de la gestación, debido al tamaño del abdomen. Este hecho hace necesario, un buen manejo de los animales gestantes en esta fase, tanto en el transporte como en la manga de trabajo, así como evaluar el espacio en los comederos, puertas, etc. para minimizar el riesgo de golpes y traumatismos (Ferrer et al., 2005).

Otro factor a tener en cuenta es el estrés que puedan sufrir las hembras gestantes, ya que genera una serie de cambios hormonales y metabólicos que, además, van a repercutir sobre el sistema inmunológico, provocando una bajada de las defensas. Todo esto puede influir sobre la gestación causando el aborto (Ferrer et al., 2005).

Además, existen una amplia variedad de compuestos tóxicos que pueden provocar abortos en las ovejas. Así, existen plantas tóxicas, que pueden encontrarse entre el pasto o ser incluidas por error entre el forraje, que tienen efecto sobre la madre o directamente sobre el feto. Las plantas estrogénicas, como los tréboles (*Trifolium* spp.) o alfalfas (*Medicago sativa*), contienen fitoestrógenos similares a los estrógenos naturales, capaces de provocar infertilidad o aborto (Roy et Soler, 2003). Otras plantas, como el eléboro (*Helleborus foetidus*), tienen

efecto teratogénico, produciendo deformaciones en el feto, normalmente incompatibles con la vida. Algunas micotoxinas, metabolitos tóxicos generados por diferentes hongos que contaminan y crecen en los alimentos, como la zearaleona producida por el hongo *Fusarium roseum* y la ergotamina producida por el cornezuelo del centeno (*Claviceps purpurea*), ocasionan desórdenes hormonales capaces de producir abortos (Ferrer et al., 2005).

Entre los agentes químicos que pueden provocar abortos destacan los nitratos y nitritos, asociados a fertilizantes, que se acumulan en las plantas de los pastos. Estos compuestos nitrogenados provocan hipoxia fetal y placentaria llegando a provocar la muerte y la expulsión del feto (Ferrer et al., 2005).

Por último, dentro de los abortos no infecciosos se incluyen los provocados por causas nutricionales. La mayoría son debidos a carencias nutricionales ya sea por macronutrientes o por minerales y vitaminas (Ferrer et al., 2005).

En el otro grupo se encuentran los abortos de origen infeccioso, que serán descritos a continuación con mayor detalle, por ser el tema principal de este trabajo. Aunque existen numerosos agentes capaces de producir abortos en el ganado ovino y caprino, la mayor parte de la casuística está originada por unos pocos, que serán los tratados con mayor profundidad.

### **1. Brucella spp.**

La brucelosis es una enfermedad provocada por bacterias del género *Brucella*. Su presencia en las explotaciones ha tenido gran importancia sanitaria, y en la actualidad su repercusión es principalmente económica, derivada de los gastos de los programas de control y erradicación, los gastos en diagnóstico, vacunación, indemnizaciones, etc. Además, sirve como barrera comercial, imposibilitando la exportación de animales y productos desde las explotaciones y/o países afectados. Por otro lado, tiene gran importancia sanitaria ya que se trata de una zoonosis grave, siendo *B. melitensis* la especie más patógena (García, 2015).

Actualmente, la CCAA de Aragón se encuentra enmarcada dentro del grupo de comunidades autónomas con prevalencia cero en el programa nacional de erradicación de la brucelosis ovina y caprina, junto con La Rioja, la Comunidad de Madrid y la Comunidad Valenciana (MAPAMA, 2017).

Las bacterias de este género se caracterizan por tener forma cocobacilar, no poseer cápsula, ser inmóviles e intracelulares facultativas. Son bacterias muy resistentes a los agentes

químicos y físicos pudiendo permanecer en el medio externo de dos a tres meses en el pasto y hasta ocho meses en el estiércol y camas (Álvarez et al., 2004; García, 2015). Además, son bacterias Gram negativas y positivas a la tinción de Stamp, hecho importante para su diagnóstico. Las especies de interés en el ganado ovino son *B. ovis* y *B. melitensis*. *B. ovis* provoca orquitis y epididimitis en los carneros, alterando su capacidad reproductiva, con las pérdidas económicas que ello supone. En menor medida puede provocar placentitis y abortos en las ovejas, además de un aumento en la mortalidad perinatal (Spickler, 2009).

La principal especie implicada en los abortos en pequeños rumiantes es *B. melitensis*, de la que se conocen los biovars 1, 2 y 3 de esta especie, predominando en el área del Mediterráneo el biovar 1 y 3 (Díaz, 2013). Las lesiones que caracterizan los abortos asociados a esta especie son placentitis necrótica con presencia de exudados, en la que se observan un gran número de cotiledones afectados (Crespo, 1994). Igualmente, el tejido intercotiledonario también está afectado, pudiendo presentar edema y exudado espeso amarillento (Diab et Uzal, 2007). A nivel del feto se van a observar diversas lesiones, tanto en órganos de la cavidad torácica, como de la cavidad abdominal, destacando focos necróticos en hígado, riñón y nódulos linfáticos, así como edema subcutáneo difuso de tono rojizo. Puede ocurrir que el cordero nazca vivo, muy débil, muriendo en las horas posteriores a su nacimiento (Álvarez et al., 2004).

La transmisión de *Brucella* spp. puede darse tanto de forma vertical como horizontal. *B. melitensis* es capaz de transmitirse al feto durante la gestación, sin embargo, solo un pequeño porcentaje de corderos resulta infectado de este modo, ya que la mayoría finalizan en aborto (Grilló et al., 1997). En cuanto a la transmisión horizontal, los productos derivados del aborto, como el líquido amniótico, la placenta o el propio feto, son la fuente principal de bacterias. Durante las semanas o incluso meses posteriores al aborto, el exudado que se excreta por la vagina presenta una elevada carga bacteriana, considerándose la principal forma de persistir la infección en un rebaño (Álvarez et al., 2004). La vía de infección es, principalmente, por vía digestiva, aunque de forma menos frecuente, también lo podrán hacer a través de la vía conjuntival, aerógena, genital o percutánea (García, 2015). Otros productos de excreción y secreción, como secreciones nasales, orina, heces, sudor o semen, tienen una menor transcendencia a la hora de transmitir el germen, aunque es posible (Crespo, 1994).

En la mayoría de las ocasiones, la infección tiene su origen en la introducción de animales enfermos o portadores inaparentes desde otra explotación. Ante un rebaño no

inmunizado la aparición de abortos tiene un carácter "explosivo", situándose la tasa de los mismos entre el 10,00% y 16,00% en la primera parición. En posteriores pariciones, la tasa de abortos disminuye. Si estos animales no son retirados del rebaño, con intervalos de tres o cuatro pariciones, la tasa de abortos puede situarse en cifras similares a la primera parición (Álvarez et al., 2004).

La existencia de infecciones latentes aumenta la dificultad de la erradicación de esta enfermedad. Esto deriva de la incapacidad de algunos individuos para inducir una respuesta inmunitaria detectable por técnicas diagnósticas, lo que genera la presencia de "portadores silentes" (Díaz, 2013). Sin embargo, se desconoce el mecanismo por el que esto sucede (Blasco et Molina, 2011).

## **2. *Chlamydophila spp.***

El aborto clamidial, también conocido como aborto enzoótico ovino (Aitken et Longbottom, 2004), está provocado por la bacteria *C. abortus*, aunque también están descritos abortos en pequeños rumiantes provocados por *C. pecorum* (Giannitti et al., 2016).

Se trata del germen que más casos de abortos infecciosos provoca en ganado ovino y caprino, tanto a nivel nacional como en toda Europa (Ramos, 2005), lo que da una idea de la importancia económica que tiene esta enfermedad. Aparte del problema económico y clínico que este germen genera en las explotaciones, de nuevo se trata de una enfermedad zoonótica, con lo cual tiene gran relevancia sobre la salud pública, pudiendo provocar aborto en las mujeres que se encuentren en el entorno de estos rebaños infectados (Ramos, 2005).

Las bacterias del género *Chlamydophila* son intracelulares obligadas, Gram negativas y positivas a la tinción de Stamp. Estas bacterias son capaces de generar formas de resistencia extracelular, lo que les permite resistir semanas en el medio ambiente (García, 2015).

La infección se produce, generalmente, por la incorporación al rebaño de ovejas asintomáticas, que eliminan estas bacterias con el feto, placenta o exudados, contaminando el medio ambiente, infectando al resto de animales por vía aerógena. Si la oveja se infecta en un momento de gestación avanzada, más de 120 días, no se observa clínica, quedando la infección latente hasta la próxima gestación. La infección activa se dará en aquellos animales que lleven menos de 90-120 días de gestación (García, 2015). La bacteria, en su forma de cuerpo elemental, se disemina en una bacteriemia durante los primeros cinco días por varios órganos del cuerpo, como intestino (Spickler, 2009), el cual puede actuar como reservorio del



agente (Buxton et al., 1990; Papp et al., 1993) y nódulos linfáticos del mesenterio, donde permanecerá latente. Entorno al día 90 de gestación se produce la segunda clamidemia, donde las bacterias se van a desplazar hacia la placenta, colonizando las células epiteliales de la misma. En esta localización placentaria se van a generar alteraciones en la placenta, dificultando el paso de metabolitos al feto, además de provocar una infección sistémica en él (Ramos, 2005). En el caso de una infección clamidial placentaria, se genera un desequilibrio hormonal asociado al daño tisular (Buxton, 2003). Todo esto conduce a que se produzca el aborto cuando faltan entre 2 y 6 semanas para que el parto tenga lugar. En ocasiones, puede tener lugar el nacimiento del cordero prematuro, pero mostrará un estado débil y normalmente muere a los pocos días. El hecho de que se produzca el nacimiento del cordero o un aborto viene determinado por el número de cotiledones de la placenta que se han visto afectados, así como de la fase de la gestación en la que se produce la infección (Ferrer et al., 2005).

Las lesiones se sitúan básicamente en las membranas placentarias, aunque los fetos también pueden verse afectados a nivel de cerebro e hígado (Longbottom et al., 2013). *Chlamydophila* spp. genera una placentitis necrótica intercotiledonaria además de vasculitis, produciendo a su vez un exudado oscuro que le da a la placenta aspecto de "cuero" (Diab et Uzal, 2007).

### 3. *Coxiella burnetii*

La fiebre Q, enfermedad producida por *Coxiella burnetii*, es una enfermedad zoonótica que constituye un grave problema de salud pública (Fernández, 2004) como se ha demostrado en varios brotes acontecidos en la especie humana, por ejemplo el sucedido en Holanda en el año 2007, en el que se vieron afectadas más de 3.500 personas (Aitken, 2007). Esta bacteria tiene la capacidad de permanecer en numerosos animales salvajes y domésticos, tanto mamíferos como aves, e incluso artrópodos como las garrapatas (Agerholm, 2013).

*C. burnetii* es una bacteria pleomórfica, de pequeño tamaño, negativa a la tinción de Gram y positiva a la tinción de Stamp. Se trata de una bacteria intracelular obligada, cuya célula diana es el monocito o el macrófago. Su ciclo replicativo posee dos fases, una fase activa en la que la bacteria se encuentra en el interior de la célula en un estado no infectante y otra fase inactiva, extracelular, en forma de resistencia, momento en el que sí es infectante, pudiendo permanecer en el medio ambiente (García, 2016).

La bacteria puede aislarse en heces, leche, fluidos vaginales y productos del aborto de animales infectados. La transmisión ocurre, fundamentalmente, por vía aerógena, tanto por exposición directa a estos productos como por exposición a materiales contaminados por éstos como la paja, la lana, el estiércol, etc. Además, esta bacteria puede ser transportada por el viento largas distancias. Por otro lado, vectores como las garrapatas también pueden diseminar la enfermedad, encontrándose el germen tanto en la probóscide como en las heces del parásito. En la infección de los ovinos, tras penetrar por la orofaringe, la bacteria se multiplica en los nódulos linfáticos regionales, para posteriormente pasar a la sangre y provocar una bacteriemia durante 5-7 días. En las ovejas gestantes *C. burnetii* se va a situar en la glándula mamaria y placenta (Aitken, 2007). Su excreción por fluidos vaginales alcanza su pico máximo en el momento del aborto o parto, produciéndose hasta dos meses postparto en algunas ovejas, mientras que en leche el patógeno es excretado intermitentemente hasta cuatro meses después del parto (García-Pérez et Astobiza, 2014).

El aborto ocurre en el último tercio de gestación. La lesión macroscópica que le caracteriza, al igual que a las bacterias anteriores, es la presencia de placentitis necrótica con presencia de exudado gris-marrónáceo. Las lesiones en los cotiledones poseen un color blanquecino (Zeman et al., 1989). Aparte de los abortos, se pueden presentar casos de mortinatalidad y animales que nacen muy débiles. En las ovejas, tras el cuadro o proceso abortivo, puede aparecer endometritis, retención placentaria e infertilidad (García, 2016).

#### **4. Salmonella spp.**

Las bacterias del género *Salmonella* también provocan cuadros de abortos en el ganado ovino, denominado en este caso aborto parafítico. La principal bacteria implicada es *S. enterica* subsp. *enterica* serotipo *abortus ovis* (García, 2015), siendo además un germen potencialmente zoonótico (Buxton, 2003).

*S. abortus ovis* es una bacteria con forma de bacilo, Gram negativa, que requiere condiciones de aerobiosis para su supervivencia (Spickler, 2007). La infección se va a producir a través de la vía oral (Buxton, 2003) y los signos clínicos que se muestran varían en función del serotipo, apareciendo signos sistémicos, entéricos y reproductivos entre otros (Aitken, 2007). El aborto provocado por este germen se suele producir durante la segunda mitad o último tercio de gestación. Los corderos pueden nacer muertos o morir a las pocas horas de nacer debido a la septicemia generada por la propia bacteria. En ocasiones, estos corderos infectados nacidos vivos presentan un aspecto normal, pero mueren en apenas tres semanas

debido a diarreas o síntomas de afección pulmonar. Se desconoce la respuesta inmune que el animal genera en vistas de la infección (Cagiola et al., 2007).

La introducción de animales portadores es la principal forma de entrada del agente al rebaño, siendo la vía oral la forma principal de transmisión, debido a la excreción del germen a través de la vagina de los animales infectados (Ferrer et al., 2005). Una vez producida la infección, *Salmonella* spp. coloniza el útero e induce deficiencias funcionales con mecanismos patogénicos desconocidos en la actualidad, provocando la excreción vaginal masiva del agente, previamente mencionada (Cagiola et al., 2007).

El cuadro lesional de feto y placenta es variable, pudiendo presentar una apariencia totalmente normal o mostrarse autolíticos. Sin embargo, en la mayor parte de las ocasiones aparecen signos de septicemia, edema y hemorragia en la membrana corioalantoidea, además de necrosis o inflamación en los cotiledones placentarios. En el feto abortado se puede observar la presencia de edema, hemorragias, necrosis, e inflamación multifocal supurativa, unido a lesiones focales de color blanquecino en hígado y pulmón (Diab et Uzal, 2007).

Con frecuencia las hembras abortadas fallecen por la septicemia, o por casos de metritis aguda, que suele ir acompañada de retención de placenta y exudaciones de tipo seroso (Spickler, 2007).

##### **5. *Campylobacter* spp.**

El aborto producido por bacterias del género *Campylobacter*, también conocido como aborto vibriónico, está causado por las especies *C. fetus fetus* y *C. jejuni*. Recientemente se ha descrito la existencia de genes de resistencia a la tetraciclina en cepas especialmente virulentas de *C. jejuni* aisladas en USA. El aumento de aislamientos de esta cepa en humana, causando enfermedad, ha generado una concienciación mayor del potencial zoonótico de este germen (Mou et al., 2014). Esta subespecie ha desplazado a *C. fetus fetus* como especie principal dentro del aborto vibriónico en este país.

Las bacterias de este género son Gram negativas y se caracterizan por ser microaerófilas, móviles, de forma curva y alargada (Aitken, 2007). Este microorganismo se encuentra de forma habitual en el intestino de mamíferos y aves, tanto domésticos como salvajes. La infección se puede producir por contaminación de comederos y, principalmente, del agua de bebida con heces de aves y mamíferos infectados. Otra posibilidad es la presencia de uno o varios animales infectados que excretan gran cantidad de estas bacterias a través de

los restos del aborto (Buxton, 2002). La transmisión es de tipo feco-oral. Debe acontecer una infección intestinal con una bacteriemia posterior para colonizar el aparato genital y provocar el aborto (Diab et Uzal, 2007).

El aborto se suele producir durante el último tercio de gestación. Normalmente este agente eleva la tasa de abortos al 10,00-20,00%, pudiendo darse en forma de grandes brotes situándose la tasa de abortos hasta en el 70,00% (Ferrer et al., 2005).

En la placenta no aparecen lesiones significativas, salvo inflamación (García, 2015). En los fetos con frecuencia se observan focos necróticos característicos en el hígado, y los animales que nacen vivos pueden presentar bronconeumonía, necrosis en hígado e inflamación no supurativa en el yeyuno y el abomaso (Aitken, 2007).

## **6. *Toxoplasma gondii***

Algunos protozoos también pueden producir trastornos reproductivos en el ganado ovino, como es el caso de *T. gondii* (Benavides et al., 2014). Se trata de un protozoo, intracelular obligado, el cual es capaz de parasitar a un gran número de vertebrados de sangre caliente (Buxton, 2002). Aparte de los trastornos reproductivos que genera, es una zoonosis de gran importancia (Castaño et al., 2015).

Este parásito sigue un ciclo coccidiano en el que el gato actúa como hospedador definitivo sin padecer, normalmente, enfermedad clínica. En el intestino de este hospedador se produce la replicación sexual del protozoo. Una vez infestado, el gato excreta por sus heces gran cantidad de ooquistes esporulados, los cuales son ingeridos por el hospedador intermediario, en este caso la oveja. Tras la ingestión, el protozoo atraviesa el intestino y se incorpora a la circulación sanguínea diseminándose por todo el organismo. Una vez que el animal es capaz de generar una respuesta inmune específica, el parásito forma quistes tisulares donde permanece durante largos periodos de tiempo. El ciclo se cierra cuando el gato ingiere tejido de animales contaminados con quistes tisulares (Benavides et al., 2014).

La toxoplasmosis presenta clínica cuando el animal está gestante en el momento en el que se produce la ingestión de los ooquistes, mientras que las consecuencias clínicas son mínimas si los animales no están gestantes. La fase de la gestación en la que se encuentran los animales en el momento en el que se produce la parasitación es fundamental para el desarrollo de los distintos cuadros clínicos. Así, si se produce en el primer tercio de gestación, la muerte fetal es prácticamente segura, produciéndose la reabsorción, pasando muchas veces

desapercibida. Si la infección ocurre durante el segundo tercio de la gestación, se produce el aborto. Sin embargo, en ocasiones, puede producirse la momificación de los fetos. Esto es debido a la capacidad intrínseca de cada feto para combatir el germen, pudiendo en partos dobles nacer un cordero vivo y otro momificado. En el último tercio de la gestación, el daño producido sobre feto disminuye debido a la respuesta inmune que éste genera, ocasionando un menor daño en placenta y las vísceras fetales. Por este motivo, no se compromete la supervivencia fetal. No obstante, si tiene lugar la transmisión del agente desde la madre al cordero, los corderos nacidos presentarán una menor vitalidad y menor desarrollo (Benavides et al., 2014).

La duración del ciclo que el parásito realiza dentro del hospedador intermediario, desde la infección hasta la aparición de la clínica o del aborto es de tres a cinco semanas. Por otro lado, además de esta presentación clásica de la enfermedad existe otra presentación clínica de toxoplasmosis, que se da de una forma más aguda, y en la que los abortos se producen a los 7-12 días tras la ingestión de ooquistes (Benavides et al., 2014).

Las lesiones que se observan en la placenta son la aparición de múltiples focos de necrosis blanco amarillentos afectando únicamente el placentoma, es decir, hay afección tanto materna como fetal (Diab et Uzal, 2007). Estos focos de 1 a 3 milímetros se van expandiendo por los placentomas, provocando en algunos casos el aborto o, en los casos en los que el feto sobrevive, daños cerebrales debidos a la anoxia derivada de la insuficiencia placentaria (Buxton, 2002).

## **7. Otros agentes infecciosos**

Aparte de los agentes infecciosos mencionados, en los que se va centrar el estudio, existen otros de distinta naturaleza (bacteriana, fúngica, parasitaria o vírica), capaces de inducir abortos, aunque con una incidencia mucho menor que los mencionados hasta ahora.

Dentro de las causas bacterianas, encontramos abortos producidos por *Listeria monocitogenes*, *Leptospira* spp., *Yersinia* spp., *Escherichia coli*, *Bacillus licheniformis*, *Trueperella pyogens* (*Actinomyces pyogens*) y *Mycoplasma* spp.

Los abortos producidos por hongos ocurren raramente en las explotaciones, siendo más frecuente en ganado bovino que en ovino (Aitken, 2007). *Aspergillus fumigatus* es la principal especie implicada en estos abortos, provocando también cuadros respiratorios y de mamitis. La infección se produce por consumo de alimento mal conservado. Entre las lesiones,

se observa una placenta engrosada y con aspecto de cuero mientras que en el feto pueden aparecer placas circulares de color blanquecino en la piel (García, 2015).

*Neospora caninum*, otro protozoo, se ha considerado, desde que fue descrita en la década de los ochenta, como una de los principales agentes causantes de aborto en el ganado vacuno. Hasta hace poco tiempo, se creía que los pequeños rumiantes poseían una resistencia especial a éste protozoo, pero recientemente se ha demostrado la presencia de un elevado número de abortos provocados por este germen, compartiendo el nicho que hasta ahora únicamente ocupaba *T.gondii*. Esto ha sido gracias a las nuevas técnicas diagnósticas utilizadas, como la PCR (Reacción en cadena de la polimerasa), evidenciando que esta enfermedad ha podido ser infradiagnosticada hasta el momento (Benavides et al., 2014).

Respecto a los abortos de origen vírico hay numerosos agentes que pueden causar problemas reproductivos en ovino. La enfermedad de la frontera, también conocida con el nombre de Border Disease (BD), está producida por un pestivirus que pertenece a la familia *Flaviviridae*. Este virus guarda una estrecha relación con otros como son el de la fiebre porcina clásica y el virus de la diarrea vírica bovina (Nettleton, 2004). Existen dos formas de transmisión del virus BD. La transmisión por contacto entre el animal infectado y el libre es la principal vía de contagio (Aitken, 2007). La transmisión vertical existe y tiene gran importancia debido a la existencia de un porcentaje de individuos que quedan persistentemente infectados al nacer de madres infectadas durante la gestación. La particularidad de estos individuos es que, pese a presentar viremia, son serológicamente negativos (Nettleton, 2004). Esta situación deriva de la ausencia de reconocimiento del virus por parte de los fetos durante la primera mitad de gestación, por lo que no se generan anticuerpos frente a él. Estos individuos se convierten en tolerantes inmunológicamente y permanecen persistentemente infectados (Buxton, 2002).

Los principales síntomas de BD aparecen por la infección de ovejas gestantes. En el caso de la oveja, la infección inicial tiene un carácter leve. No ocurre lo mismo con el feto en el que las consecuencias son graves. La muerte del feto se puede dar en cualquier etapa de la gestación, pero ocurre de manera más común en etapas iniciales. Este hecho es de gran importancia, ya que, al producirse la reabsorción embrionaria sin que la madre necesariamente muestre síntomas, la enfermedad puede pasar desapercibida, complicando su diagnóstico en la explotación (Nettleton et al., 1998). La enfermedad se manifiesta con el aborto, o con el nacimiento de corderos con pelaje de tipo duro, defectos esqueléticos,

problemas nerviosos como ataxia, temblores, movimientos bruscos de la cabeza, etc. Del mismo modo, se pueden dar casos de nacimientos de corderos totalmente normales (Buxton, 2002).

Existen otros virus que pueden producir trastornos reproductivos en pequeños rumiantes, aunque con una menor importancia que el BD en nuestra región. Es el caso del virus de la lengua azul, un *Orbivirus*, o el virus de Schmallerberg, ambos transmitidos por un mosquito del género *Culicoides* que actúa como vector. También existe la posibilidad de la transmisión vertical, *in utero*, dando lugar a abortos, mortinatos y malformaciones en el esqueleto de los corderos (García, 2015).

## **2. JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS**

Las explotaciones de ovino de carne obtienen mayoritariamente ingresos económicos por la venta de corderos. Un aborto en ovino de carne supone aproximadamente 75 euros de pérdida para el ganadero, en esta cifra está contemplada la alimentación de la madre, la prolificidad media de Aragón y el precio medio de venta del cordero (MAPAMA, 2014). Por ello, el conocimiento de los agentes que provocan los abortos en las explotaciones aragonesas, así como su grado de implicación, permite tener una visión de las medidas preventivas que sería aconsejable tomar en cada zona para controlar su incidencia, así como de la efectividad y rentabilidad de los tratamientos implantados en las explotaciones.

Dentro del ámbito económico, además de las pérdidas que estos microorganismos generan a nivel de explotación, hay otros aspectos que cabe destacar. Alguno de estos gérmenes se encuentra dentro de programas de erradicación, con el desembolso económico por parte de la Administración Pública que ello supone. Conocer la evolución de los casos de estos agentes da una idea de la eficacia y rentabilidad del trabajo realizado por la Administración y por los veterinarios clínicos a lo largo del tiempo.

Muchos de los agentes que provocan abortos en las ovejas son agentes zoonóticos, los cuales pueden poner en riesgo la salud de las personas que se expongan a ellos, teniendo en ocasiones graves consecuencias para las personas, como puede ser el caso de *B. melitensis*. Del mismo modo, el riesgo para los animales tiene gran importancia, sin olvidar la pérdida de bienestar animal derivada de los procesos patológicos, entre los que hay que incluir los abortos.

Existen múltiples agentes capaces de provocar brotes de abortos en ovejas y cabras, pudiendo causarlos en pureza o acompañados de otros gérmenes. Tanto el tipo de muestra como el número de las misma suele ser un factor importante a la hora del diagnóstico de las enfermedades. Igualmente, debido a la resistencia de determinados gérmenes en el medio ambiente los procesos abortivos son una patología que se presenta durante todo el año, si bien presenta épocas en las que son más importantes, probablemente debido a los sistemas de producción.

Así pues, este trabajo se plantea los siguientes objetivos:

- Obtener una visión general de los agentes que causan brotes de abortos, tanto en ovejas como en cabras, a partir del análisis de los resultados laboratoriales desde el año 1997 hasta la actualidad.
- Valorar la influencia que tiene sobre el diagnóstico de un brote de abortos, tanto el número, como el tipo de muestras enviadas al laboratorio.
- Conocer la influencia que tienen las estaciones del año sobre la aparición de brotes de abortos causados por estos gérmenes.
- Hacer una valoración crítica del funcionamiento del programa de erradicación de la brucelosis ovina y caprina durante el periodo estudiado.

### **3. METODOLOGÍA**

Para la realización de este trabajo, se han analizado un total de 6.113 informes obtenidos en el Laboratorio Agroalimentario del Gobierno de Aragón desde el año 1997 hasta la actualidad. Estos informes tienen su origen en los brotes de abortos acontecidos durante este tiempo en distintos rebaños de ovejas y cabras de la CCAA de Aragón. Se denomina brote de abortos al incremento significativo de casos en relación a los valores esperados en una explotación, estimando aceptable una tasa de abortos de hasta el 4,00%, por lo que se consideró brote cuando la tasa sobrepasó esta cifra. Los datos recogidos reflejaron los resultados de los análisis microbiológicos realizados a partir de las muestras de sangre, placenta, feto y/o hisopos vaginales obtenidos por parte de los veterinarios responsables de los rebaños de ganado ovino y caprino, siempre tras el aviso, por parte del propietario, de un brote abortivo. Una vez tomadas las muestras por el veterinario clínico, éstas eran remitidas al Laboratorio Agroalimentario del Gobierno de Aragón, donde se procesaron e interpretaron.



En función del agente patógeno sospechoso en cada brote de abortos la técnica diagnóstica empleada fue distinta, variando también para la detección de un mismo agente patógeno, dependiendo del año en que se realizó el diagnóstico, como consecuencia de la evolución y mejora en las pruebas diagnósticas. Así, en el caso de *Chlamydophila* spp., desde principio de los años noventa hasta la actualidad, la técnica de elección ha sido la tinción de Stamp. Hasta el año 1999 esta técnica convivió junto con la prueba de Clearview. Posteriormente, durante los años 2000 y 2001 además de estas dos pruebas, se comenzó a realizar la PCR, y a partir del año 2001 hasta la actualidad, las dos pruebas empleadas simultáneamente para el diagnóstico de *Chlamydophila* spp. fueron la tinción de Stamp y la técnica de PCR.

Con el diagnóstico de *C. burnetii* ocurrió algo similar. Hasta el año 1999 las pruebas diagnósticas empleadas fueron la tinción de Stamp y la prueba de la inmunofluorescencia indirecta (IFI). Durante los años 2000 y 2001, las técnicas de Stamp, IFI y PCR convivieron simultáneamente, hasta que, desde el año 2002 se establecieron la tinción de Stamp y la PCR como pruebas de rutina.

Para *T. gondii* y el virus de Border disease la técnica empleada para su identificación fue la PCR, mientras que el resto de agentes patógenos fueron aislados mediante el cultivo de los mismos a partir de las muestras recibidas en el laboratorio. Las condiciones de cultivo como temperatura, tiempo y medio de cultivo fueron diferentes en función del germen a aislar en cada caso.

Una vez obtenidos los resultados de los análisis de las diferentes muestras, se generó un fichero mediante el programa informático *Microsoft Excel* para su posterior estudio estadístico. En la hoja de cálculo creada, se reflejó el número de registro de cada una de esas muestras en el laboratorio, el tipo (feto, hisopo vaginal, placenta y/o sangre) y el número de muestras tomadas por el veterinario, la identificación de las mismas, la especie (ovina o caprina) y la fecha de entrada de la muestra al laboratorio. Además de estos datos, la tabla se completó con el nombre de los agentes patógenos identificados en cada una de las muestras, así como la técnica empleada para ello.

REGISTRO	MUESTRA	NUMERO	IDENTIFICACION	ESPECIE	ENTRADA	RESULMICR1
						Aislamiento de Brucella: Negativo. Aislamiento de Salmonella: Negativo. Aislamiento de Campylobacter: Negativo. Técnica Clearview para detectar antígeno de
	503 HVAGINAL	1	1	OVINA	21-abr-98	Chlamudia: Positiva

Figura 3.1. Fila del fichero creado para realizar el estudio.

Una vez generada esta tabla, se creó una base de datos para desglosar la información contenida en cada muestra y clasificar esa información de una manera que fuera útil a la hora de realizar el estudio estadístico de los brotes de abortos. Cada columna de la base de datos contenía la siguiente información relativa a cada muestra: si se había alcanzado un diagnóstico o no, el nombre de los agentes aislados en caso de ser una muestra positiva, si se había producido aislamiento bacteriano o no en el cultivo microbiológico, si era puro el aislamiento o si la muestra presentaba más de un agente patógeno posible causante del aborto (aislamiento además de las otras pruebas). Además, para el caso de *Chlamydothila spp.* y *C. burnetii* se registró también el tipo de técnica diagnóstica empleada para su identificación.

Toda la información recogida fue analizada mediante el paquete estadístico *SPSS 20.0* (IBM, Michigan, Illinois), con el que se obtuvieron los resultados que se reflejan a continuación.

## **4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

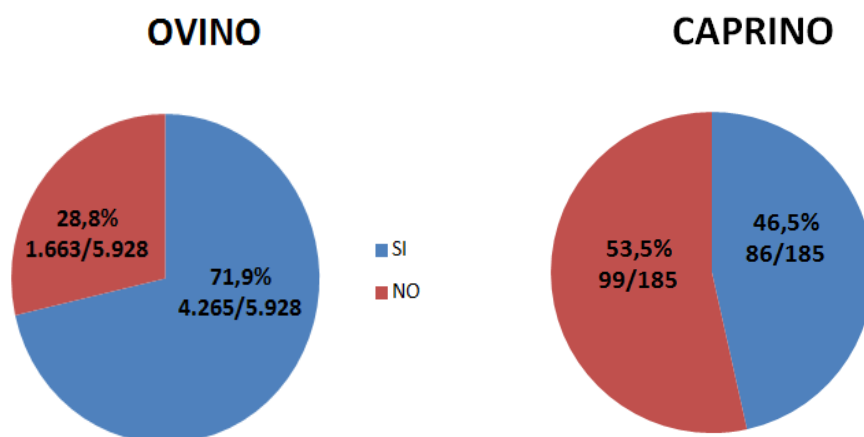
### **4.1 RESULTADOS DEL PROCESO DE DIAGNÓSTICO.**

#### **4.1.1 VALORACIÓN DE LA PRESENCIA/AUSENCIA DE DIAGNÓSTICO.**

Entrando a comentar los resultados referentes al éxito del proceso diagnóstico, se puede observar que, del total de brotes estudiados, en un 28,80% de los casos (1.761/6.113) no hubo aislamiento ni identificación de gérmenes, pudiendo deberse a la aparición de un aborto de tipo no infeccioso, o a un fallo en la toma y/o conservación de la muestra a analizar. En el 71,20% (4.352/6.113) se consiguió identificar al menos un agente infeccioso compatible con el origen de los procesos abortivos. Estos porcentajes de abortos se ajustan a los datos por Ferrer et al. en el año 2005.

Al analizar la especie de origen en la que se había producido el aborto, se observó que el 71,90% de los brotes acontecidos en la especie ovina tuvieron algún tipo de aislamiento

(Gráfica 4.1), mientras que tan sólo el 46,50% de los casos analizados en la especie caprina lo tuvieron (Gráfica 4.2). Este dato difiere con el expuesto por Robert y Moeller en un estudio realizado en el año 2001, en el que hallaron que tan solo un 37,00% de aislamientos resultaron positivos en el caso de la especie caprina. Esto representó diferencias significativas ( $p < 0,05$ ), siendo la probabilidad de no encontrar diagnóstico infeccioso en un brote 3,00 veces mayor en la especie caprina que en la ovina.



Gráfica 4.1. Distribución de los brotes en especie ovina de acuerdo a la presencia/ausencia de diagnóstico.

Gráfica 4.2. Distribución de los brotes en especie caprina de acuerdo a la presencia/ausencia de diagnóstico.

#### 4.1.2 ESTUDIO DEL NÚMERO DE MUESTRAS REMITIDAS AL LABORATORIO.

Como se puede observar en la figura 4.3, el número de muestras tomadas y enviadas al laboratorio influyó sobre la probabilidad de obtener un diagnóstico positivo, de forma que al aumentar el número de muestras se aumentaba la probabilidad de diagnóstico. De esta manera se observa que, cuando fue enviada una sola muestra al laboratorio se obtuvo diagnóstico en el 56,00% de las ocasiones; si fueron dos las muestras que se remitieron, el porcentaje de diagnóstico ascendió al 72,80% y, finalmente, cuando el número de muestras tomadas fue mayor de dos, se obtuvo un 80,60% de brotes con aislamiento.

El análisis de la variable nominal "presencia/ausencia de diagnóstico" respecto al número de muestras enviadas al laboratorio, mediante pruebas de Chi cuadrado, indicó que sí existen diferencias significativas según el número de muestras enviadas, siendo 2,10 veces más probable encontrar diagnóstico cuando fueron enviadas dos muestras frente a una, aumentando a una probabilidad de 3,40 veces cuando fueron tres las muestras enviadas frente a una. El hecho de enviar tres muestras hizo 1,60 veces más probable el obtener diagnóstico positivo frente a cuando se enviaron dos muestras.

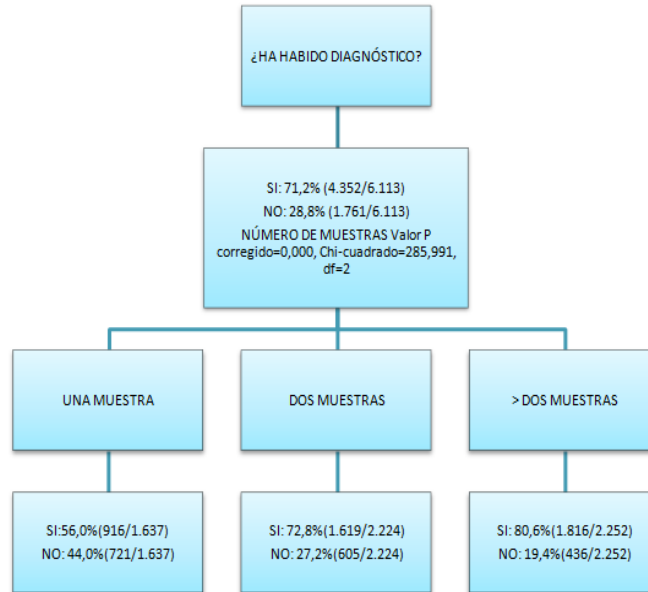
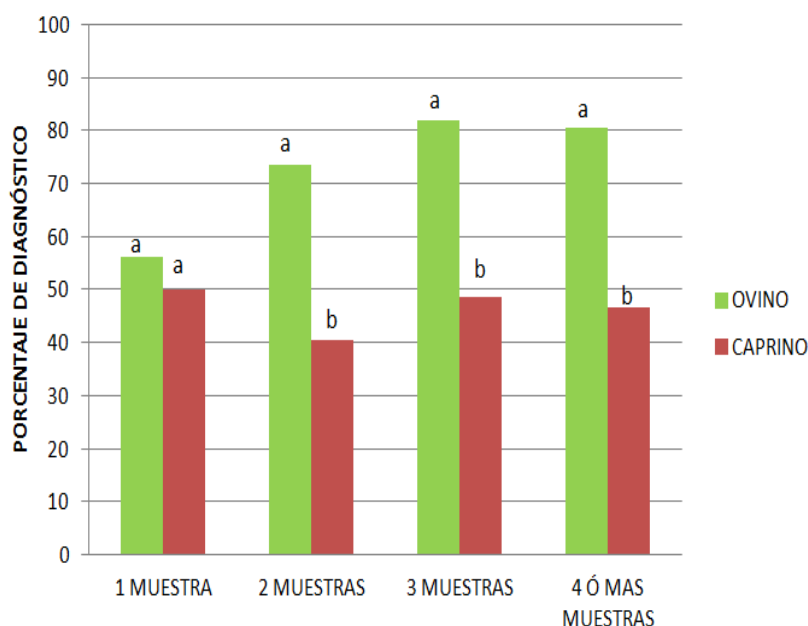


Figura 4.3. Capacidad de diagnóstico en un brote de abortos en función del número de muestras enviadas.

El estudio de la presencia/ausencia de diagnóstico dentro de cada especie en relación al número de muestras remitidas al laboratorio mostró resultados dispares. En el caso de la especie ovina se observó una relación positiva en la obtención de diagnóstico cuanto mayor fue el número de muestras remitidas al laboratorio para el análisis del brote. Sin embargo, en la especie caprina no se observó un efecto positivo al remitir al laboratorio un número mayor de muestras. Esto se puede explicar en parte, por una mayor proporción de abortos de carácter no infeccioso en el ganado caprino (Robert et Moeller, 2001).

Como se ha visto en el caso de los brotes, el análisis del número de muestras tomadas y enviadas según la especie, también resultó significativo conforme se aumentaba el número de estas ( $p < 0,05$ ), resultando no significativo ( $p > 0,05$ ) únicamente cuando fue enviada una sola muestra. Remitir dos muestras al laboratorio supuso un aumento de la probabilidad de encontrar un diagnóstico positivo de 4,10 veces en ovejas respecto a cabras. En el caso de que fueran tres el número de muestras remitidas, el aumento de la probabilidad fue 4,80 veces superior. En el caso de ser cuatro o más las muestras enviadas, esa probabilidad se situó en 4,70 veces mayor en especie ovina que caprina.

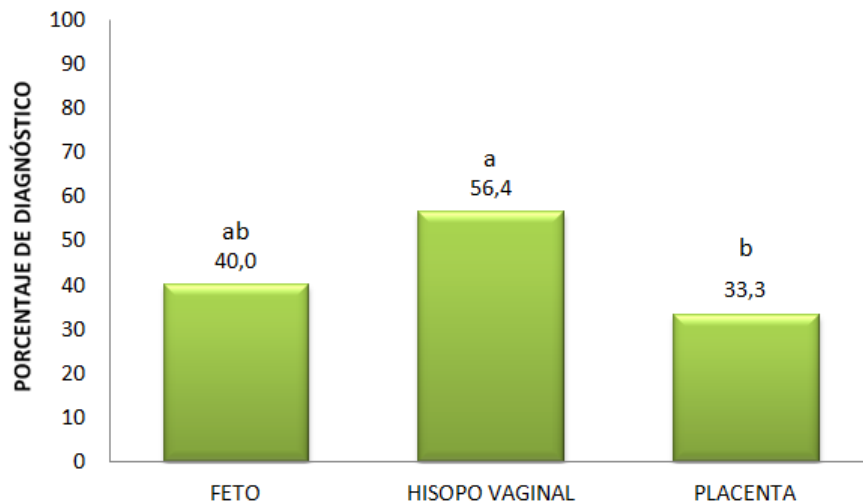


Gráfica 4.4. Porcentaje de diagnóstico positivo en la especie ovina y caprina según el número de muestras remitidas al laboratorio.

#### 4.1.3 ESTUDIO DEL TIPO DE MUESTRA REMITIDA AL LABORATORIO.

Posteriormente, se analizó la influencia del tipo de muestra tomada sobre el resultado del análisis, con el objetivo de averiguar si existe una muestra más eficaz que otra para el diagnóstico. Para el análisis de los brotes estudiados, fueron remitidas al laboratorio tres tipos distintos de muestras: feto, hisopo vaginal y placenta. En la muestra de hisopo vaginal el porcentaje de aislamiento positivo, fue del 71,40%. Sin embargo, si el tipo de muestra elegida por el veterinario de campo para obtener un diagnóstico fue el feto abortado o la placenta, el porcentaje de diagnóstico positivo fue de un 48,10% y 36,40% respectivamente.

Para valorar de manera objetiva el poder diagnóstico de cada tipo de muestra se analizaron los datos de los diagnósticos obtenidos exclusivamente de los casos en los que se había enviado una sola muestra al laboratorio. De esta manera, como se muestra en la gráfica 4.5, cuando la muestra enviada al laboratorio fue única estos porcentajes de hallazgo de diagnóstico variaron. En el caso del hisopo vaginal, el porcentaje de diagnósticos positivos fue de un 56,40%, y del 40,00% y 33,30% para las muestras feto o placenta, respectivamente. Esto indicó que la posibilidad de encontrar un diagnóstico positivo fuese 2,60 veces mayor en el hisopo vaginal que en la placenta ( $p < 0,05$ ), sin encontrarse diferencias significativas respecto al envío del resto de muestras ( $p > 0,05$ ).



Gráfica 4.5. Porcentaje de diagnóstico positivo según el tipo de muestra remitida al laboratorio.

## 4.2 RESULTADOS DEL DIAGNÓSTICO DE LOS GÉRMENES.

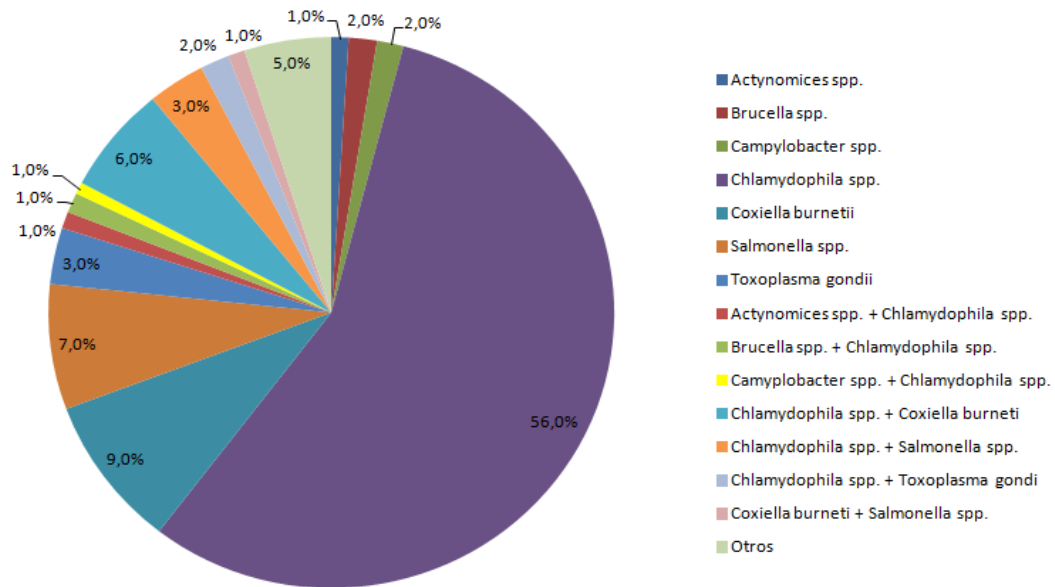
### 4.2.1 PRESENCIA DE AGENTES ETIOLÓGICOS.

Desde una visión general, los agentes etiológicos que se muestran en la gráfica 4.6 fueron los aislamientos más frecuentemente encontrados en los brotes de abortos a lo largo del periodo de tiempo estudiado.

De los brotes analizados durante el trabajo, un total de 4.352 resultaron positivos a algún agente patógeno de los cuales 3.558 fueron provocados por un solo agente mientras que en 794 de los casos fueron brotes de tipo mixto.

El agente que fue identificado en pureza en un mayor número de ocasiones fue *Chlamydomphila* spp., siendo aislado en el 56,00% de los brotes, seguido de *C. burnetii* y *Salmonella* spp. en un 9,00% y 7,00% de los brotes analizados, respectivamente. Por debajo de estos porcentajes, pero aun con cifras importantes encontramos a *T. gondii* (3,00%), *Brucella* spp. (2,00%) y *Campylobacter* spp. (2,00%). Estas cifras difieren en parte con las aportadas por Esnal en un estudio realizado en el año 2010 a nivel de toda España, donde se muestran los siguientes porcentajes: *Chlamydomphila* spp., 56,30%; *C. burnetii*, 16,00%; *Salmonella* spp., 6,20%; *T. gondii*, 9,00% y *Campylobacter* spp., 5,60%.

En el caso de los brotes en los que se aisló más de un germen, la combinación que se observó con mayor frecuencia fue la de *Chlamydomphila* spp. junto con *C. burnetii* suponiendo el 6,00% de los brotes de abortos. La combinación entre *Chlamydomphila* spp. y *Salmonella* spp. se aisló en el 3,00% de los brotes.

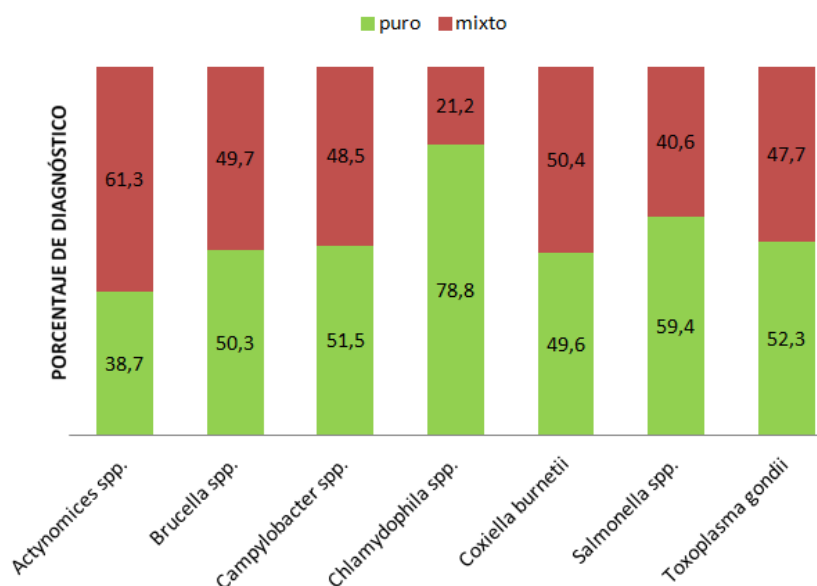


Gráfica 4.6. Presencia de los diferentes agentes causales de brotes de abortos.

Estos agentes mencionados hasta el momento van a ser objeto de un análisis más exhaustivo debido a su prevalencia en el estudio.

Durante el periodo de tiempo estudiado se observó cómo determinados agentes se encontraron más frecuentemente causando el brote abortivo en forma pura, destacando *Chlamydomphila* spp. en el 78,80% (2.467/3.130) de sus aislamientos (gráfica 4.7).

Otros agentes, como *C. burnetii*, *T. gondii*, *Campylobacter* spp. o *Brucella* spp., aparecieron en pureza en torno al 50,00% las ocasiones. Por último, destacó el caso de *Actynomices* spp., que durante el periodo estudiado fue aislado en un 61,30% (68/111) de los casos de forma mixta frente a un 39,70% (43/111) de ocasiones de forma individual.



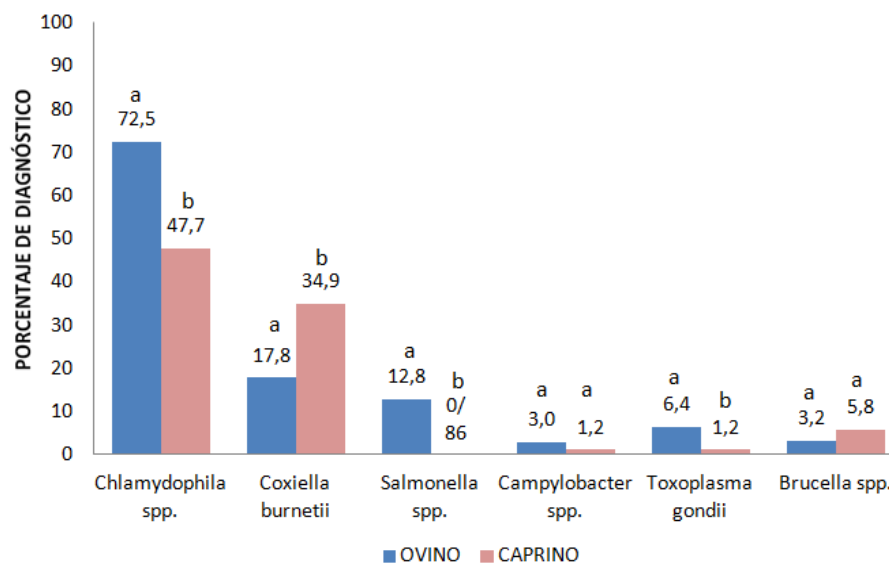
Gráfica 4.7. Proporción de aislamientos en forma pura y mixta para distintos agentes.

#### 4.2.2 PRESENCIA DE AGENTES ETIOLÓGICOS SEGÚN LA ESPECIE ORIGEN DEL ABORTO.

Los porcentajes en los que los gérmenes fueron aislados en los brotes de abortos analizados en este trabajo difirieron entre ovejas y cabras según se representa en la gráfica 4.8. De esta manera, aunque *Chlamydia* spp. fue el principal agente aislado en ambas especies, hubo diferencias en cuanto a la frecuencia de aislamiento, siendo ésta de un 72,50% en ovejas y un 47,70% en cabras.

Otro dato relevante fue la mayor importancia, tanto de forma pura como mixta, de *C. burnetii* en los brotes de la especie caprina, alcanzando un porcentaje de 34,90%, frente al 17,80% observado en ovejas. Así mismo, *Salmonella* spp. no fue aislada en brotes de abortos en la especie caprina, mientras que en la ovina se identificó en el 12,80% de los brotes. Además, el porcentaje de abortos en los que se aislaron otros gérmenes, tales como *L. monocitogenes*, *Leptospira* spp., *Mycoplasma* spp., *Streptococcus* spp., etc., fue mayor en los brotes de la especie caprina (12,00%) que en el caso de la ovina, en la que únicamente representaron el 1,00% de los casos analizados.



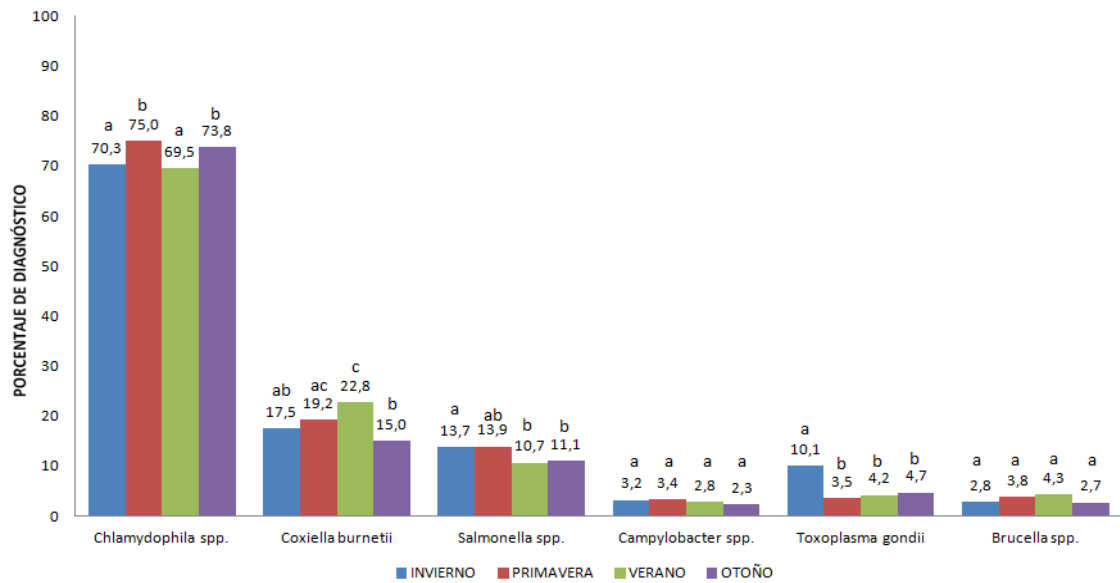


Gráfica 4.8. Importancia de los distintos aislamientos en especies ovina y caprina.

Salvo *Brucella* spp. y *Campylobacter* spp., el resto de agentes mostraron diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0,05$ ) respecto a la especie analizada, de modo que parece que determinados gérmenes tienen mayor afinidad por una especie que por otra.

#### 4.2.3 AISLAMIENTO DE AGENTES ETIOLÓGICOS SEGÚN LA ESTACIÓN DEL AÑO.

Como se ha comentado y puede observarse en la gráfica 4.9, *Chlamydomphila* spp. fue identificada en un elevado porcentaje de brotes durante todo el año, destacando en primavera. Esto puede ser debido a que las corderas de reposición, introducidas al rebaño en otoño aprovechando su primer celo, paren en primavera, y debido a la alta prevalencia de este agente en los rebaños, suelen infectarse durante su primera gestación, produciéndose el aborto en primavera, durante el último tercio de su gestación. Además, en primavera suelen concentrarse los partos en aquellos rebaños que no se realiza planificación reproductiva. En estos casos, ante un problema de abortos, el número de animales gestantes en esta época es mucho mayor que en otras, siendo más probable, y mayor, la aparición de un brote de abortos.



Gráfica 4.9. Presencia de los diferentes agentes en función de la estación del año.

Por otro lado, en el caso de *C. burnetii*, como muestra la figura 4.10, durante los meses cálidos, primavera y verano, el porcentaje de diagnósticos por esta causa fue mayor. Estos meses son los de mayor actividad para los vectores de este germen, las garrapatas, haciendo que los animales se infecten y aborten. Además, este hecho puede asociarse también a que durante esta época el polvo de la paridera está más seco y puede ser arrastrado con más facilidad por el viento, siendo una importante forma de transmisión para la infección por vía aerógena (García, 2016).

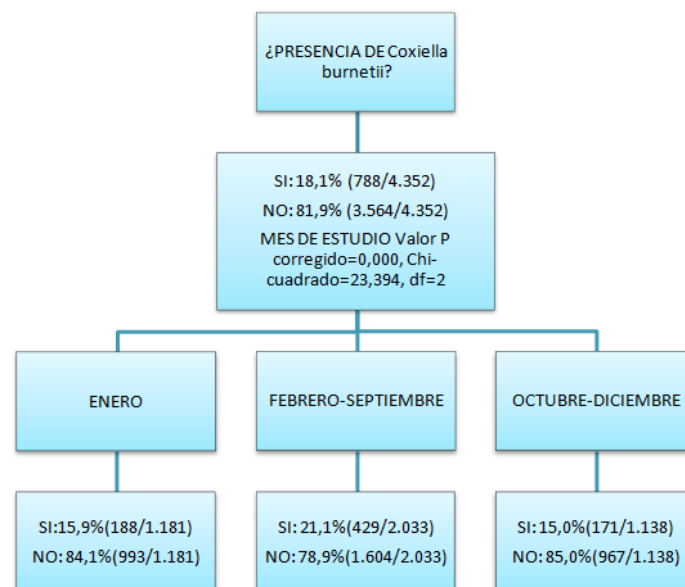


Figura 4.10. Presencia de *C. burnetii* agrupada por meses.

*T. gondii* fue identificado como causa de brotes de abortos en invierno principalmente. La explicación de este hecho puede estar ligada al manejo de los animales, ya que en invierno los animales permanecen generalmente en estabulación con suplementación nutricional, pudiendo entrar en contacto con el hospedador definitivo del parásito que es el gato, favoreciéndose la transmisión del parásito por el consumo de alimentos y agua de bebida contaminados con heces de este animal (Mareco, 2009). Como se muestra en la figura 4.11, entre los meses de noviembre y enero se obtuvo un 14,10% de brotes por este agente.

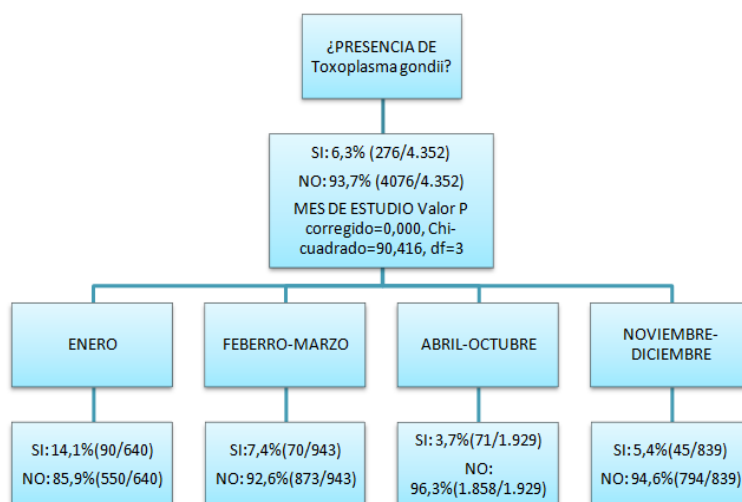


Figura 4.11. Presencia de *T. gondii* agrupada por meses.

#### 4.2.4 PRESENCIA DE AGENTES ETIOLÓGICOS A LO LARGO DEL TIEMPO.

En este apartado, se analizó la evolución en los aislamientos de los diferentes agentes causantes de brotes de abortos infecciosos desde el año 1997 hasta el año 2017.

*Chlamydophila* spp. se mostró como principal agente causal de brotes de abortos, apreciándose dos puntos clave en el periodo analizado. A principios de la década de los años 2000 comenzó la vacunación de los rebaños frente a *Chlamydophila* spp. con vacuna viva, provocando un descenso del número de brotes de abortos causados por este agente a partir de este momento. A partir del año 2012 los brotes de abortos causados por *Chlamydophila* spp. volvieron a elevarse. Este hecho pudo deberse a la aparición de brotes de abortos por *Chlamydophila* spp. provocados por las cepas vacunales que retomaron patogenicidad (Wheelhouse et al., 2010) así como por la duración únicamente de 2-3 años de la inmunidad proporcionada por la vacunación en animales que no se volvieron a vacunar.

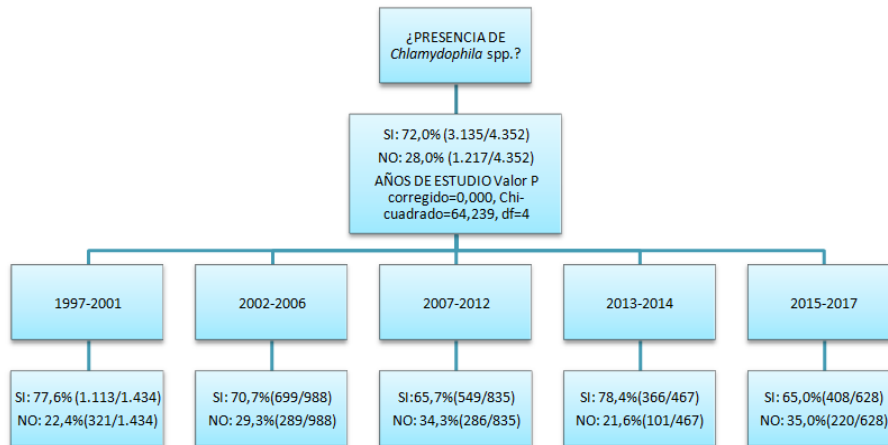


Figura 4.12. Presencia de *Chlamydia* spp., agrupada por años.

En el año 2000 se introdujo la técnica diagnóstica de PCR para la detección de *C. burnetii*, aumentando el porcentaje de muestras en las que se pudo detectar su presencia. Del mismo modo, como se ha comentado anteriormente, en el inicio de este siglo se comenzó a vacunar frente a *Chlamydia* spp., pudiendo desplazar *C. burnetii* la casuística de abortos infecciosos producidos hasta el momento por *Chlamydia* spp., aumentando el porcentaje de casos producidos por este germen. Como se aprecia en la figura 4.13, hubo un incremento en los aislamientos de este agente en los abortos infecciosos durante los últimos años.

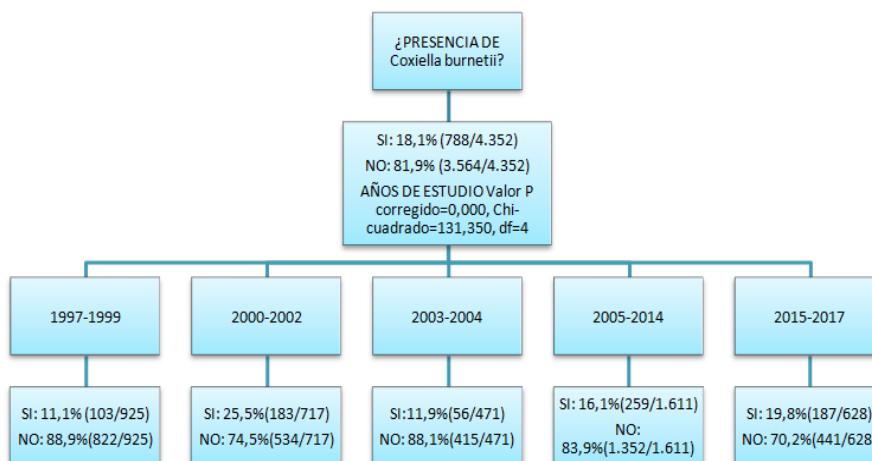


Figura 4.13. Presencia de *C. burnetii*, agrupada por años.

*Salmonella* spp. se identificó en el 12,50% de los brotes analizados en este periodo. Se pueden distinguir tres momentos en los que hubo un aumento de este porcentaje. Así, durante los años 2002-2006 el germen apareció en el 13,70% de los abortos y en el periodo de los años 2007-2010 participó en el 18,20% de los mismos. Igualmente, se evidenció otro

aumento de este germen desde el año 2015 hasta el final del periodo estudiado en un 15,40% de los brotes de abortos.

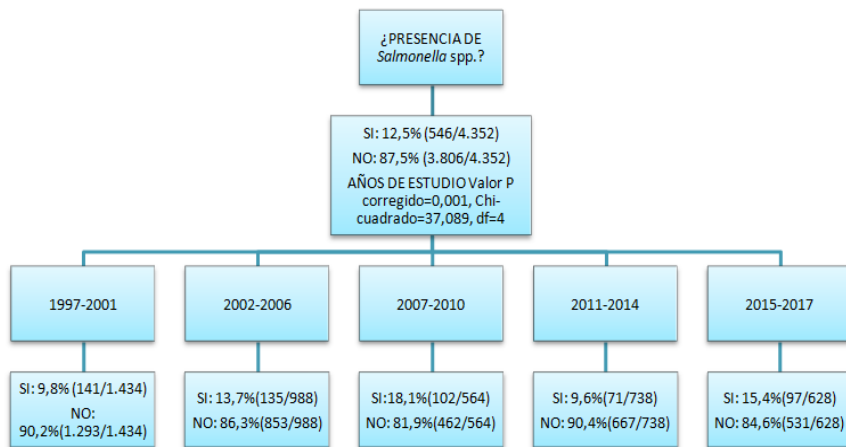


Figura 4.14. Presencia de *Salmonella* spp., agrupada por años.

Como indica la figura 4.15, el número de brotes causados por *T. gondii* hasta el año 2000 fue prácticamente nulo. Esto se debe a que las técnicas diagnósticas empleadas hasta ese momento no eran lo suficientemente sensibles para lograr diagnosticar el agente. En ese año se introdujo la técnica PCR como método diagnóstico del germen, lo que hizo que su diagnóstico a partir de ese momento comenzara a mostrarse en números más reales.

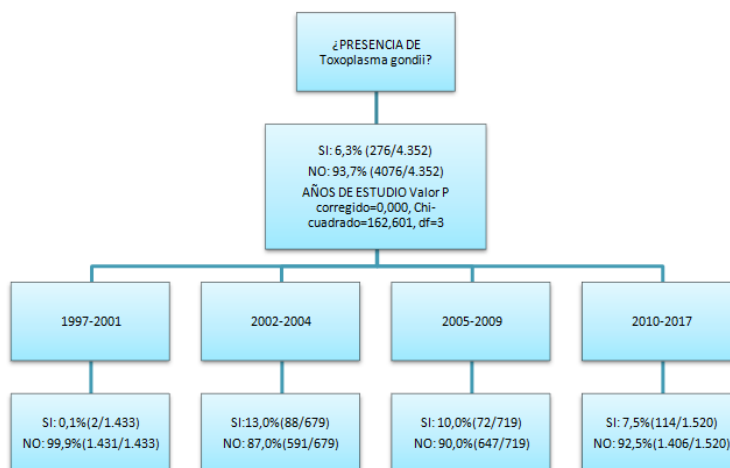


Figura 4.15. Presencia de *T. gondii*, agrupada por años.

#### 4.2.5 VALORACIÓN DE LA CAMPAÑA DE CONTROL Y ERRADICACIÓN *Brucella* spp.

A finales de los años 90 dio comienzo la campaña oficial de control y erradicación de brucelosis en el ganado ovino y caprino. Con el análisis realizado mediante este trabajo

obtenemos información acerca del funcionamiento del plan. Como se observa en la figura 4.16, en años anteriores a 1998, momento el que se vacunaba masivamente a los animales frente a este agente, los brotes de abortos diagnosticados causados por este germen se situaban en torno al 12,00%. Con el comienzo del citado plan, en la década de los 2000 se observó una notable disminución del porcentaje de casos, situándose en el periodo de años de 1999-2002 en un 4,20% y durante los años 2003-2007 en un 2,00%. Desde el año 2007 hasta la actualidad no se han observado casos de brucelosis en los brotes de abortos infecciosos analizados en este estudio. A la vista de los resultados, se puede corroborar el buen funcionamiento del programa de erradicación de la enfermedad en la región, como así se demuestra también con la calificación sanitaria obtenida en Aragón.

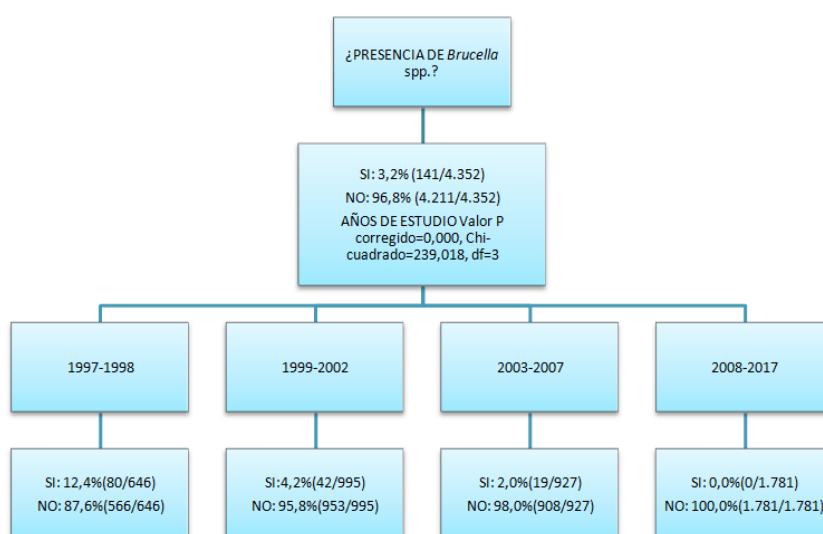


Figura 4.16. Evolución de brotes de abortos causados por *Brucella* spp. a lo largo del tiempo.

#### 4.2.6 VALORACIÓN DE LA TÉCNICA STAMP PARA EL DIAGNÓSTICO DE *Chlamydophila* spp. Y *C. burnetii*.

En las tablas 4.17 y 4.18 se pone de manifiesto la concordancia existente entre las pruebas utilizadas a partir del día 1 de enero de 2007 para el diagnóstico de *Chlamydophila* spp. y *C. burnetii*. La técnica diagnóstica empleada que se ha comparado ha sido la tinción de Stamp, enfrentándola a la prueba "gold standard" PCR.

En el caso de *Chlamydophila* spp., el análisis mostró un valor de kappa de 0,434. Siguiendo la escala propuesta por Landis y Koch, el grado de acuerdo entre las dos pruebas es moderado. En el mismo grado de acuerdo, moderado, se presentó para el valor de kappa para *C. burnetii* dando una cifra de 0,530.

Tabla 4.17. Concordancia entre la tinción de Stamp y PCR para el diagnóstico de *Chlamydophila* spp.

<b><i>Chlamydophila</i> spp.</b>		PCR	
		NO	SI
Tinción de Stamp	NO	51,00% (611/1.199)	49,00% (588/1.199)
	SI	0,80% (6/731)	99,20% (725/731)

Como muestra la tabla 4.17, únicamente el 51,00% de los casos en los que por tinción de Stamp se obtuvieron resultado negativo, fueron realmente negativos al realizar la prueba de PCR. Del mismo modo, únicamente en el 0,80% de los casos la muestra resultó positiva por tinción de Stamp y negativa por PCR. Esto le otorga a la técnica Stamp una baja sensibilidad (55,20%) y una alta especificidad (99,00%), lo que hace que no pueda ser utilizada como única prueba diagnóstica para este agente.

Tabla 4.18. Concordancia entre la tinción de Stamp y PCR para el diagnóstico de *C. burnetii*.

<b><i>C. burnetii</i></b>		PCR	
		NO	SI
Tinción de Stamp	NO	86,90% (1.529/1.759)	13,10% (230/1.759)
	SI	0,00% (0/163)	100,00% (163/163)

Ocurrió lo mismo en el caso de *C. burnetii* como se puede ver en la tabla 4.18. Para este agente la tinción de Stamp mostró una baja sensibilidad (41,40%) y una alta especificidad (100,00%). En el 86,50% de los casos en los que la muestra fue negativa a la tinción de Stamp, también lo fue a la prueba de referencia, la PCR. En cambio, en el 100,00% de los casos en los que se observó el agente en la tinción de Stamp la muestra también fue positiva a la prueba PCR.

## **5. CONCLUSIONES**

- I. *Chlamydophila* spp. es el principal agente causal de brotes de abortos, seguido de *C. burnetii*, tanto en la especie ovina como caprina, en el periodo de tiempo analizado.
- II. El envío de un mayor número de muestras al laboratorio presenta diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) a la hora de aumentar la probabilidad de obtener diagnóstico positivo sobre el agente causal sospechoso. Estas diferencias han sido observadas únicamente en la especie ovina, no así en el caso del ganado caprino.

- III. Existen diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) a la hora de obtener éxito en el diagnóstico según el tipo de muestra que se envía al laboratorio. En es el hisopo vaginal se aísla, al menos, un agente infeccioso en el 56,40% de los casos. Este porcentaje es del 40,00% si la muestra procede de feto y de un 33,00% cuando es de placenta.
- IV. *Chlamydophila* spp. se aísla en un mayor número de abortos en primavera, mientras que *C. burnetii* aparece más frecuentemente en verano y *T. gondii* presenta una tendencia clara de aislamientos en invierno.
- V. El empleo de técnicas diagnósticas poco sensibles para diversos agentes puede dar un infradiagnóstico de los mismos, como ocurrió hasta el año 2000 con *C. burnetii* y *T. gondii*.
- VI. La campaña de saneamiento y erradicación de *B. melitensis* en los rebaños de ovino y caprino ha resultado eficaz, logrando pasar de un porcentaje del 12,40% de abortos causados por este germen en el año 1998, hasta desaparecer prácticamente a partir del año 2007.
- VII. La técnica de tinción de Stamp muestra una baja sensibilidad y alta especificidad en el diagnóstico de *Chlamydophila* spp. y *C. burnetii*, por lo que esta técnica no pueda ser utilizada como única prueba para el diagnóstico de estos dos gérmenes.

## 5.1 CONCLUSIONS

- I. *Chlamydophila* spp. is the main causal agent of small ruminant abortion outbreaks over the analyzed period, followed by *C. burnetii*.
- II. Sending a larger number of samples to the laboratory provided significant differences ( $p < 0,05$ ), increasing the probability of obtaining a positive diagnosis on the suspected causal agent. These differences have been observed only in sheep, but not in goats.
- III. There are significant differences ( $p < 0,05$ ) in the success of the diagnosis according to the type of sample sent to the laboratory. Vaginal swabs obtained successful diagnosis in 56,40% of the cases, while fetuses obtained 40,00% of positive isolations and placental tissue 33,30%.
- IV. *Chlamydophila* spp. is most frequently isolated in spring, whereas *C. burnetii* appears more often in summer and *T. gondii* shows a clear tendency of isolations in winter.
- V. The use of low sensitive laboratory techniques for some germs can give an underdiagnosis of them, like happened until 2000 with *C. burnetii* and *T. gondii*.



- VI. The campaign for eradication of *B. melitensis* in sheep and goat flocks has proved to be effective, decreasing the abortions caused by this germ from 12,40% in 1998 until practically disappear in 2007.
- VII. The Stamp staining technique shows low sensitivity and high specificity in the diagnosis of *Chlamydothila* spp. and *C. burnetii*. Consequently, this technique should not be used as the only test for the diagnosis of these two germs.

## **6. VALORACIÓN PERSONAL**

El Trabajo Fin de Grado me ha permitido a nivel formativo, ampliar mis conocimientos en relación a la patología abortiva en los pequeños rumiantes, integrando los conocimientos obtenidos en diferentes asignaturas a lo largo de la carrera como son microbiología, bioestadística y epidemiología e integración en rumiantes. Del mismo modo me ha permitido desarrollar mi capacidad investigadora analizando diferentes fuentes bibliográficas y utilizando programas estadísticos novedosos para mí hasta el momento.

Con estas líneas querría mostrar mi más profundo y sincero agradecimiento a todas aquellas personas que han hecho posible el desarrollo de este Trabajo Fin de Grado.

Primero, y como más importante a mis directores de Trabajo Fin de Grado. Gracias Luis, José María y Teresa, sus conocimientos, paciencia y trabajo superlativo han sido una fuerte motivación para desarrollar este proyecto de la mejor manera posible.

Gracias al Laboratorio de Sanidad Animal del Departamento de Desarrollo Rural y Sostenibilidad del Gobierno de Aragón por la plena disponibilidad y voluntad mostrada a la hora de prestar la información para llevar a cabo el trabajo.

Y por último, y no menos importante, gracias a mi familia, en especial a mi abuela Lucía Concepción Gascón Del Prín, por estos inolvidables cinco años vividos junto a ti.

## **7. BIBLIOGRAFÍA**

Agerholm, J.S. (2013). *Coxiella burnetii* associated reproductive disorders in domestic animals- a critical review . Acta Veterinaria Scandinavica. Vol. 55, 13-14.

Aitken, I.D. (2007). Diseases of sheep. Fourth edition. Blackwell Publishing Ltd. Ames, United States of America.

Aitken, I.D. & Longbottom, D. (2004). Aborto enzoótico de las ovejas (Clamidiosis ovina). Manual de las pruebas de diagnóstico y de las vacunas para los animales terrestres (mamíferos aves y abejas). Organización mundial de Sanidad animal. Cap. 2.4.7, 683-689. París, Francia.

Aller, J.M.; Fregeneda, J.M.; Fernández, M. (2000). Mastitis por *Aspergillus fumigatus* en ganado ovino. Revista iberoamericana de Micología. Vol. 17 (Suplemento), 13-17.

Álvarez, L.; Latre, M.V.; Garrido, F.; Yustes, C.; Vendrell, J.; Gómez. B.; García, M.J.; Ruíz, E.; Gutiérrez, C.; Durán, M. (2004). Reflexiones sobre la brucelosis de la oveja. Anales de la Real academia de ciencias veterinarias de Andalucía Oriental. Vol. 17, 31-60.

Benavides, J.; Castaño, P.; Ferreras, M.C.; Pérez, V. (2014). Abortos por protozoos. En XXXIX Congreso de la Sociedad Española de Ovinotecnia y Caprinotecnia. Ourense. 139-152.

Blasco, J.M. y Molina-Flores, B. (2011). Control and eradication of *Brucella melitensis* infection in sheep and goats. Veterinary Clinics of North America. Vol. 27, nº 1, 95-104.

Buxton, D. (2002). Aborto en ovino por toxoplasma y otros agentes. Mundo Ganadero. Nº 143, 66-71.

Buxton, D., Barlow, R.M., Finlayson, J., Anderson, I.E., McKellar, A. (1990). 259 Observations on the pathogenesis of *Chlamydia psittaci* infection of pregnant 260 sheep. Journal of comparative pathology. Vol. 102, 221-237.

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

Castaño, P.; Fuertes, M.; Regidor-Cerrillo, J.; González-Lanza, C.; Moreno-Gonzalo, J.; Ferre, I.; Fernández, M.; Ferreras, M.C.; Katzer, F.; Ortega-Mora, L.M.; Pérez, V.; Benavides, J. (2015). Infección experimental por *Toxoplasma gondii* en el primer, segundo y último tercio de gestación en ovejas. Respuesta y distribución del parásito. En XL Congreso de la Sociedad Española de Ovinotecnia y Caprinotecnia. Castellón de la Plana 463-468.

Crespo, F. (1994). Brucelosis ovina y caprina. Ed. Office International des Epizooties–OIE. Paris, Francia. 141.

Day, C.A. & Corbel, M.J. (1974). Haematological Changes Associated with *Aspergillus fumigatus* Infection in Experimental Mycotic Abortion of Sheep. *British Journal of Experimental Pathology*. Vol. 55, nº4, 352-362.

Diab, S.S. & Uzal F.A. (2007). Diagnóstico de las causas más comunes de aborto infeccioso en ovino y caprino. Prensas universitarias de California. California, Estados Unidos.

Díaz, E. (2013). Epidemiología de la brucelosis causada por *Brucella melitensis*, *Brucella suis* y *Brucella abortus* en animales domésticos. *Scientific and Technical Review of the Office International des Epizooties*. Vol. 32, nº 1, 43-51.

Esnal, A.; Martín, S.; Palacín, I.; Escobal, I.; Marco, J.; Extramiana, A.B.; Elorriaga, M. (2010). Estudio de la patología abortiva en pequeños rumiantes en España (2007-2010) (I): Análisis etiológico. En XXXV Congreso de la Sociedad Española de Ovinotecnia y Caprinotecnia. Valladolid. 295-299.

Fernández, M. (2014). Fiebre Q en España: «una historia inconclusa». *Enfermedades infecciosas y microbiología clínica*. Vol. 32, nº 4, 211-212.

Ferrer, L.M.; Gil, J.A.; Pereira-Bueno, J.; Collantes-Fernández, E.; Álvarez-García, G.; Rodolakis, A.; Fariñas, F.; Zorrilla, I. (2005). Guía del aborto ovino. Editorial Intervet. Madrid, España.

García, J. (2015). Abortos infecciosos en rumiantes. Prensas Universitarias de Zaragoza. Zaragoza, España.

García, J. (2016). Fiebre Q (Coxiellosis de los rumiantes). Prensas Universitarias de Zaragoza. Zaragoza, España.

García-Pérez, A. & Astobiza, I. (2014). La fiebre Q, una zoonosis de actualidad. Albeitar. Enlace obtenido el 20/7/2017 de: <http://albeitar.portalveterinaria.com/noticia/11812/articulos-rumiantes-archivo/la-fiebre-q-una-zoonosis-de-actualidad.html>

Giannitti, F.; Anderson, M.; Miller, M.; Rowe, J.; Sverlow, K.; Vasquez, M.; Cantón, G. (2016). *Clamidia pecorum*: fetal and placental lesions in sporadic caprine abortion. Journal of veterinary diagnostic investigation. Vol.28, nº 2, 184-189.

Grilló, M.J.; Barberán, M.; Blasco, J.M. (1997). Transmission of *Brucella melitensis* from sheep to lambs. Veterinary Record. Vol. 140, nº 23, 602-605.

Longbottom, D.; Livingston, M.; Maley, S.; Van Der Zon, A.; Rocchi, M.; Wilson, K.; Wheelhouse, N.; Dagleish, M.; Aitchison, K.; Wattegedera, S.; Nath, M.; Entrican, G.; Buxton, D. (2013). Intranasal infection with *Chlamydia abortus* induces dose-dependent latency and abortion in sheep. Public library of science. Vol. 8, nº 2, 1-11.

López, M.J.; Cárdenas, M.; Osuna, A. (2012). Manual de laboratorio de microbiología para el diagnóstico de infecciones genitales. Editorial OmniaScience. Barcelona, España.

MAPAMA (Ministerio de Agricultura y Pesca, Alimentación y Medio Ambiente) (2017). Programa nacional de erradicación de la brucelosis ovina y caprina (*Brucella melitensis*) presentado para su confinación 2017-2018. Madrid, España.

MAPAMA (Ministerio de Agricultura y Pesca, Alimentación y Medio Ambiente) (2014). Resultados técnico-económicos del Ganado Ovino de carne de 2014, Subdirección General de Análisis, Prospectiva y Coordinación, Subsecretaría. Madrid, España.

Mareco, G. (2009). Aborto ovino y caprino. Engormix. Enlace obtenido el 10/3/2017 de: <http://www.engormix.com/ovinos/articulos/aborto-ovino-caprino-t28396.htm>

Mariné, A. (1983). Aumento de la productividad numérica de los rebaños. Pérdidas antes, durante y después del parto. Nuestra cabaña. Vol. 126, 9-15.

Medina, E. (2005). Introducción al SPSS, manejo y procesamiento básico de datos básico en SPSS. Prensas universitarias de Madrid. Madrid, España.

Mou, K. T.; Muppirala, U. K.; Severin, A. J.; Clark, T. A.; Boitano, M.; Plummer, P. J. (2014). A comparative analysis of methylome profiles of *Campylobacter jejuni* sheep abortion isolate and gastroenteric strains using PacBio data. Frontiers in Microbiology. Vol. 5, 782.

Nettleton, P.F. (2004). Enfermedad de la frontera. Manual de las pruebas de diagnóstico y de las vacunas para los animales terrestres (mamíferos aves y abejas). Organización mundial de Sanidad animal. Cap. 2.10.5, 1116-1126. París, Francia.

Nettleton, P.; Gilray, J.; Russo, P.; Dlisi, E. (1998). Border disease of sheep and goats. *Veterinary Research*. Vol. 29, 327-340.

Papp, J.R.; Shewen, P.E.; Gartley, C.J. (1993). *Chlamydia psittaci* infection and associated infertility in sheep. *Journal of veterinary diagnostic investigation*. Vol. 57, nº 3, 185-189.

Ramos, R. (2005). Inmunología y diagnóstico del aborto enzoótico ovino. *Mundo Ganadero*. Nº 182, 33-38.

Robert, B. & Moeller, J. (2001). Causes of caprine abortion: diagnostic assessment of 211 cases (1991-1998). *Journal of veterinary diagnostic investigation*. Vol. 13, 265-270.

Roy, T.J. & Soler, F. (2003). Plantas que afectan a la reproducción (en plantas tóxicas para el ganado ovino I). *Ovis*. Nº 89, 57-72.

Spickler, A.R. (2007). *Salmonella abortusovis*. Prensas universitarias de Ames. Iowa, Estados Unidos.

Spickler, A.R. (2009). Brucelosis. Prensas universitarias de Ames. Iowa, Estados Unidos.

Spickler, A.R. (2009). Epididimitis ovina: *Brucella ovis*. Prensas universitarias de Ames. Iowa, Estados Unidos.

Spickler, A.R. (2009). Ovine and Caprine Brucellosis: *Brucella melitensis*. Prensas universitarias de Ames. Iowa, Estados Unidos.

Wheelhouse, N.; Aitchison, K.; Laroucau, K.; Thomson, J.; Longbottom D. (2010). Evidence of *Chlamydia abortus* vaccine strain 1B as a possible cause of ovine enzootic abortion. *Vaccine*. Vol. 28, nº 35, 5657-5663.

Zeman, D.; Kirkbride, C.; Leslie-Steen, P.; Duimstra, J. (1989). Ovine abortion due to *Coxiella burnetii* infection. *Journal of veterinary diagnostic investigation*. Vol. 1, 178-180.