



**Diagnóstico de abortos y muertes perinatales en ovinos en diferentes regiones de Argentina y estudio de la seroprevalencia aparente de *Chlamydia abortus* y *Leptospira* spp. en tambos ovinos de la provincia de Buenos Aires**

**Paola Della Rosa**

**Trabajo de Tesis para ser presentado como requisito parcial para optar al Título de**

**MAGISTER SCIENTIAE en Sanidad Animal**

**Área de Producción Animal**

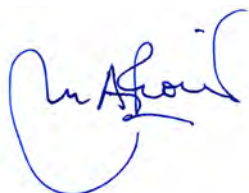
**PROGRAMA DE POSGRADO EN CIENCIAS AGRARIAS**

**FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS  
UNIVERSIDAD NACIONAL DE MAR DEL PLATA**

**Balcarce, Argentina  
Octubre 2021**

**Diagnóstico de abortos y muertes perinatales en ovinos en diferentes regiones de Argentina y estudio de la seroprevalencia aparente de *Chlamydia abortus* y *Leptospira* spp. en tambos ovinos de la provincia de Buenos Aires**

**Paola Della Rosa**



**Directora de Tesis: Dra. María Andrea, Fiorentino**



**Co-Director de Tesis: Dr. Germán José, Cantón**

**Diagnóstico de abortos y muertes perinatales en ovinos en diferentes regiones de Argentina y estudio de la seroprevalencia aparente de *Chlamydia abortus* y *Leptospira* spp. en tambos ovinos de la provincia de Buenos Aires**

**Paola Della Rosa**



**Prof. Liliana TRIARTE, Mag**  
Secretaría de Posgrado  
Facultad de Ciencias Agrarias  
UNMdP

**p/a**

**Evaluador/a: Dr. Federico, Giannitti**



**Prof. Liliana TRIARTE, Mag**  
Secretaría de Posgrado  
Facultad de Ciencias Agrarias  
UNMdP

**p/a**

**Evaluador/a: Dr. Carlos Alejandro, Robles**



**Prof. Liliana TRIARTE, Mag**  
Secretaría de Posgrado  
Facultad de Ciencias Agrarias  
UNMdP

**p/a**

**Evaluador/a: Dra. María del Carmen, Rojas**

## AGRADECIMIENTO

Al final de esta tesis me encuentro con muchas deudas, por los aportes que realizaron a ella un gran número de personas, a través de apoyos (materiales, intelectuales y morales), sugerencias, observaciones y críticas; aspectos sin los cuales no habría sido posible concluirla. Deudas que difícilmente se puedan saldar; sin embargo, quisiera aportar un poco a ello agradeciendo en este espacio a quienes contribuyeron a la construcción y conclusión de ésta.

En principio quiero agradecer a las instituciones que hicieron posible el desarrollo de esta tesis: la Universidad Nacional de Mar del Plata, Facultad de Ciencias Agrarias (Balcarce) por haber sido parte en mi formación y al Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria por haber financiado el trabajo de tesis. También, agradecer al laboratorio de Bacteriología de la Estación Experimental Agropecuaria (EEA) INTA Balcarce por permitirme desarrollar mis actividades y constituir mi lugar de trabajo. A los laboratorios de Virología, Patología, Neosporosis y Toxoplasmosis de la EEA INTA Balcarce por haberme apoyado en la realización de algunos análisis correspondientes a las muestras recibidas. Al laboratorio de Leptospirosis del INTA Castelar por las cepas cedidas. Al laboratorio de Inmunología de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad de Buenos Aires, por haberme recibido en sus instalaciones las veces que fueron necesarias, permitiéndome analizar las muestras.

A mis directores Andrea Fiorentino y Germán Cantón por brindarme sus consejos, experiencia y sabiduría, sin ocultarme nada, ocupándose constantemente y realizando importantes aportes, los cuales fueron fundamentales para el desarrollo de esta tesis, pero a su vez mucho más importantes para mi desarrollo profesional. Gracias por la confianza y el apoyo constante incluso luego de haber concluido la tesis.

A Yanina Hecker, Jorgelina Lomónaco, Rosana Malena, Alejandra Méndez, Valeria Scioli, Felipe Andrés Cheuquepán Valenzuela, Maia Marín, Juan García, Silvina Tieri y a mis compañeros del grupo de Sanidad Animal de la EEA INTA Mercedes (Ctes.) por haberme ayudado en algunas tareas relacionadas a la tesis. A Ernesto Späth por los cálculos del tamaño muestral.

A Lucía Gallo Vaulet que me recibió innumerables veces en el laboratorio de Inmunología de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad de Buenos Aires. Colaboró tanto intelectual como de forma material en el análisis de algunas muestras, compartiendo su amistad y simpatía conmigo.

A mi director de beca Gastón Caspe por haber confiado en mí y enviado a un laboratorio de excelencia, contactándome con personas maravillosas. Por mantener contacto frecuente asegurándose que el objetivo principal fuese cumplido.

A los evaluadores cuyos aportes permitieron mejorar la calidad del manuscrito.

A mis padres María Rosa y Humberto y a mis hermanos José Francisco, María Milagros y Consuelo por brindarme su apoyo incondicional siempre.

A Carlos Garro y Milagros Della Rosa, que me ayudaron con los análisis estadísticos.

Finalmente, y no por eso menos importante a mis compañeros de laboratorio de la EEA INTA Balcarce, Fernando, Andrea, Jorgelina, Paula, Laurita, Florencia, Silvina, Valeria, Alejandra Méndez, Rosana, Cristian, Abel, Yossi, Claudia, Alejandra Velilla, Juan y Brenda quienes compartieron conmigo sus perspectivas, conocimientos, ánimos y amistad.

## ÍNDICE

<b>1. INTRODUCCIÓN</b> .....	1
1.1. Generalidades.....	1
1.2. Situación del aborto y muerte perinatal ovina a nivel mundial y nacional.....	1
1.3. Causas bacterianas/protozoarias de aborto y muerte perinatal.....	4
1.3.1. <i>Chlamydia abortus</i> .....	4
1.3.2. <i>Escherichia coli</i> y <i>Providencia</i> sp.....	6
1.3.3. <i>Leptospira</i> spp.....	6
1.3.4. <i>Trueperella pyogenes</i> y <i>Mannheimia haemolytica</i> .....	7
1.3.5. <i>Listeria</i> spp.....	8
1.3.6. <i>Campylobacter jejuni</i> .....	8
1.3.7. Protozoos apicomplejos (Apicomplexa).....	9
1.4. Causas no infecciosas de aborto y muerte perinatal.....	10
<b>2. HIPÓTESIS</b> .....	12
<b>3. OBJETIVOS</b> .....	13
3.1. Objetivo general.....	13
3.2. Objetivos particulares.....	13
<b>4. MATERIALES Y MÉTODOS</b> .....	14
4.1. Determinación de la seroprevalencia aparente de <i>C. abortus</i> y <i>Leptospira</i> spp.....	14
4.1.1. Seroprevalencia aparente de <i>Chlamydia abortus</i> .....	15
4.1.2. Seroprevalencia de <i>Leptospira</i> spp. ....	16
4.2. Determinación de la seroprevalencia aparente y seguimiento de animales seropositivos para evaluar excreción vaginal de <i>C. abortus</i> luego del parto.....	17
4.3. Determinación de las causas de abortos y muertes perinatales en ovinos....	18
4.3.1. Análisis de fetos, placentas y corderos .....	18
4.3.1.1. Necropsia, toma y análisis de muestras.....	19
4.3.2. Bacteriología.....	21
4.3.2.1. Cultivo bacteriológico.....	21
4.3.2.2. Inmunofluorescencia directa.....	23
4.3.2.2.1. <i>Leptospira</i> spp.....	23
4.3.2.2.2. <i>Campylobacter fetus</i> .....	23
4.3.2.2.3. <i>Chlamydia</i> spp.....	24
4.3.2.3. Tinción de Ziehl Neelsen modificada (Stamp).....	25

4.3.2.4. Técnica de PCR para <i>Chlamydia</i> spp.....	25
4.3.2.4.1. PCR anidada.....	25
4.3.2.4.2. PCR en tiempo real.....	27
4.3.3. Categorización causal de acuerdo con la interpretación integrada de los resultados de laboratorio y anamnesis en cada caso .....	27
4.3.3.1. Causas bacterianas/protozoarias.....	28
4.3.3.2. Causas no infecciosas.....	28
4.3.3.3. Causas indeterminadas.....	29
4.3.4. Análisis estadístico.....	29
4.3.4.1. Análisis serológico.....	29
4.3.4.2. Análisis de abortos y muertes perinatales.....	30
<b>5. RESULTADOS.....</b>	<b>30</b>
5.1. Determinación de la seroprevalencia aparente.....	30
5.1.1. Seroprevalencia aparente de <i>Chlamydia abortus</i> .....	30
5.1.2. Seroprevalencia de <i>Leptospira</i> spp .....	33
5.2. Determinación de la seroprevalencia aparente y seguimiento de animales seropositivos para evaluar excreción vaginal de <i>C. abortus</i> luego del parto.....	33
5.3. Determinación de las causas de abortos y muertes perinatales .....	34
5.3.1. Análisis de fetos, placentas y corderos.....	34
5.3.2. Causas bacterianas/protozoarias.....	41
5.3.2.1. Bacterias.....	42
5.3.2.1.1. <i>Escherichia coli</i> y <i>Providencia</i> sp. ....	42
5.3.2.1.2. <i>Leptospira</i> spp.....	44
5.3.2.1.3. <i>Trueperella pyogenes</i> y/o <i>Mannheimia haemolytica</i> .....	45
5.3.2.1.4. <i>Listeria ivanovii</i> .....	46
5.3.2.1.5. <i>Campylobacter jejuni</i> .....	48
5.3.2.2. Protozoos apicomplejos.....	50
5.3.3. Causas no infecciosas.....	51
5.3.3.1. Estrés inanición hipotermia.....	52
5.3.3.2. Trauma.....	54
5.3.3.3. Distocia.....	55
5.3.4. Causas indeterminadas.....	56
<b>6. DISCUSIÓN.....</b>	<b>60</b>
<b>7. CONCLUSIONES.....</b>	<b>86</b>

8. BIBLIOGRAFÍA.....88



**ÍNDICE DE TABLAS**

Tabla 1.....	15
Tabla 2.....	21
Tabla 3.....	31
Tabla 4.....	34
Tabla 5.....	35
Tabla 6.....	40
Tabla 7.....	41
Tabla 8.....	53
Tabla 9.....	57

**ÍNDICE DE FIGURAS**

Figura 1.....	31
Figura 2.....	37
Figura 3.....	38
Figura 4.....	39
Figura 5.....	43
Figura 6.....	44
Figura 7.....	45
Figura 8.....	46
Figura 9.....	48
Figura 10.....	49
Figura 11.....	51
Figura 12.....	54
Figura 13.....	55
Figura 14.....	56

## RESUMEN

En Argentina existen alrededor de 15.000.000 de ovinos, 80% de los cuales se encuentran ubicados en la Patagonia, el resto se distribuye principalmente en las regiones Pampeana, Mesopotámica y Noroeste. A nivel mundial, las pérdidas reproductivas son una de las principales limitantes de la producción ovina, pero estas mermas se encuentran poco documentadas en Argentina. En otros países los abortos en ovinos son provocados principalmente por agentes infecciosos y protozoarios, muchos de los cuales son zoonóticos. A su vez, las muertes perinatales (corderos que nacen vivos y mueren entre el día 1 y 3 posparto inclusive) son atribuidas principalmente a causas no infecciosas. El aborto enzoótico ovino, causado por *Chlamydia abortus*, y la leptospirosis, han sido identificadas como causales de pérdidas en otros países, sin embargo, son escasos los antecedentes sobre estas enfermedades zoonóticas en ovinos de Argentina. El objetivo general del presente trabajo fue: Estimar la seroprevalencia aparente de *C. abortus* y *Leptospira* spp. en tambos ovinos de la provincia de Buenos Aires e identificar causas bacterianas, protozoarias y no infecciosas de abortos y muertes perinatales en ovinos de Argentina. Se analizaron 485 sueros de ovejas/borregas de las razas Frisona Milchschaaf o Pampinta, seleccionados de una seroteca de 1098 muestras de 8 tambos de la provincia de Buenos Aires, determinándose la seroprevalencia aparente de *C. abortus* mediante ELISA indirecto y de 8 serovares de *Leptospira* spp. mediante microaglutinación (MAT). Además, se examinaron patológicamente 58 casos (27 fetos abortados por 25 madres -2 pares de mellizos-, 9 de los cuales incluyeron placentas, y 31 corderos  $\leq 3$  días de vida) de 15 establecimientos de Buenos Aires (8), Corrientes (5), Santa Fe (1) y Entre Ríos (1). Tejidos y/o fluidos corporales de los 58 casos fueron analizados por histología, pruebas microbiológicas (incluyendo cultivos bacteriológicos y cultivo selectivo para *Salmonella* spp.), moleculares y serológicas/inmunológicas. Para la detección de *Chlamydia* spp., se realizó PCR anidada, PCR en tiempo real, inmunofluorescencia directa (IFD) y tinción de Ziehl Neelsen modificada (Stamp), mientras que para la detección de *Leptospira* spp. se realizó IFD y PCR en tiempo real y para la detección de *Campylobacter fetus* se realizó IFD. Muestras de tejidos y/o fluidos corporales se usaron para diagnóstico de *Toxoplasma gondii* y *Neospora caninum* por PCR e inmunofluorescencia indirecta. Resultados: La seroprevalencia aparente general de *C. abortus* fue 7,8% (IC<sub>95%</sub> 6,04-9,6%) a nivel de individuos, encontrándose animales positivos en 100% (8/8) de los establecimientos. Se estableció una asociación estadísticamente significativa ( $p=0,03$ ) entre la raza Frisona

Milchscaf y la mayor probabilidad de presentar serología positiva a *C. abortus*, sin embargo, se plantea la necesidad de realizar mayores estudios. Esta asociación podría no deberse a la raza sino a que otros factores (manejo, región, ambiente, endemia, etc) son los condicionantes de la presencia de la enfermedad y la raza actúa como factor confundente. No se encontraron seroreactores a ninguno de los 8 serovares de *Leptospira* spp. (dilución 1/100), indicando una seroprevalencia <4%. En 50% (29) de los 58 casos analizados patológicamente, las muertes se atribuyeron a agentes bacterianos/protozoarios, en 25,8% (15) a causas no infecciosas, y en el 24,1% (14) restante no se pudo establecer el agente causal (casos indeterminados). Sin embargo, 9 de estos casos (15,5% del total y 64,2% de los indeterminados) presentaron lesiones histológicas sugestivas de un agente infeccioso/protozoario y 5 casos (8,6% del total y 35,7% de los indeterminados) presentaron lesiones no sugestivas de agentes infecciosos/protozoarios o no presentaron lesiones. Un 25,8% (15) de las pérdidas se atribuyó a bacterias y 24,1% (14) a protozoos (*Toxoplasma/Neospora*). Las causas bacterias identificadas fueron *Escherichia coli*, *Leptospira* spp., *Trueperella pyogenes*, *Mannheimia haemolytica*, *Listeria ivanovii*, *Campylobacter jejuni*, y *Providencia* sp. Los 58 casos (100%) resultaron negativos para *C. abortus*, *C. fetus* y *Salmonella* spp. Las causas no infecciosas identificadas fueron distocias en los fetos, y el síndrome de estrés-inanición-hipotermia y traumas en los corderos. A su vez, entre los casos analizados, los fetos abortados tuvieron mayor probabilidad de ser diagnosticados con una causa bacteriana/protozoaria que los corderos muertos en la etapa perinatal ( $p < 0,05$ ). Mediante este estudio se logró realizar una aproximación diagnóstica de causas bacterianas, protozoarias y no infecciosas de aborto y muerte perinatal en ovinos de Argentina. Sin embargo, sería conveniente realizar estudios más amplios para determinar si las pérdidas continúan presentando similar distribución cuando el número de muestras analizadas incrementa y/o identificar causas no identificadas hasta el momento.

**Palabras clave:** Ovinos, abortos, muerte perinatal, seroprevalencia aparente de *Chlamydia abortus*, seroprevalencia de *Leptospira* spp.

## ABSTRACT

In Argentina there are around 15,000,000 sheep, 80% of which are in the Patagonia region, the remainder are mostly distributed in the Pampean, Mesopotamian and Northwest regions. Reproductive losses are one of the main constraints of sheep production worldwide, but these losses are poorly documented in Argentina. In other countries abortions in sheep are caused mainly by infectious agents and protozoa, many of which are zoonotic. In turn, perinatal deaths (lambs that are born alive and die between day 1 and 3 postpartum) are mainly attributed to non-infectious causes. Ovine Enzootic Abortion caused by *Chlamydia abortus*, and leptospirosis, have been identified as causes of these losses in other countries; however, there is little information on these zoonotic diseases in sheep from Argentina. The general objective of this work was: To estimate the apparent seroprevalence of *C. abortus* and *Leptospira* spp. in sheep farms in the province of Buenos Aires and to identify bacterial, protozoal and non-infectious causes of abortions and perinatal deaths in sheep in Argentina. A total of 485 sera from sheep of the Friesian Milchschaaf or "Pampinta" breeds were selected from a collection of 1098 samples from 8 dairy farms in the province of Buenos Aires. The samples were analyzed to determine the apparent seroprevalence of *C. abortus* by indirect ELISA and of 8 serovars of *Leptospira* spp. by microagglutination test (MAT). In addition, 58 carcasses ovine carcasses were pathologically examined. These included 27 fetuses aborted by 25 dams (2 pairs of twins), 9 of which included placentas, and 31 1- to 3-day-old lambs from 15 farms in Buenos Aires (8), Corrientes (5), Santa Fe (1) and Entre Ríos (1). Tissue and/or body fluid samples of the 58 cases were analyzed by histology, microbiological (including bacteriological cultures and selective culture for *Salmonella* spp.), molecular and serological/immunological tests. For the detection of *Chlamydia* spp., nested PCR, real time PCR, direct immunofluorescence assay (DIF) and modified Ziehl Neelsen staining (Stamp) were performed, while DIF and real-time PCR were performed for the detection of *Leptospira* spp., and DIF was performed for the detection of *Campylobacter fetus*. Tissue and/or body fluid samples were used for diagnosis of *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* by PCR and indirect immunofluorescence assay. Results: The general apparent seroprevalence of *C. abortus* was 7.8% (CI<sub>95%</sub> 6.04-9.6%) at the individual level and 100% at the farm level. A statistically significant association ( $p = 0.03$ ) was found between the Friesian Milchschaaf breed and *C. abortus* seropositivity, however, there is a need for further studies. This association might not be due to race but to other factors (management, region, environment,

endemic, etc.) are determining the presence of the disease, and race acts as a confounding factor. All sera were negative for the 8 serovars of *Leptospira* spp. at the 1/100 dilution, indicating that the seroprevalence is <4%. A total of 27 aborted fetuses (4 fetuses from 2 mothers), 9 of which had a placenta, from 25 aborted females and 31 lambs that died at 1-3 days of age were analyzed. In 50% (29) of the 58 pathologically examined cases deaths were attributed to bacterial/protozoal agents, while in 25.8% (15) death was attributed to non-infectious causes, and in the remaining 24.1% (14) it was not possible to establish the causal agent (indeterminate cases). However, 9 of these cases (15.5% of the total and 64.2% of the cases of undetermined causes) had histologic lesions suggestive of an infectious/protozoal agent and 5 cases (8.6% of the total and 35.7% of the indeterminate cases) had lesions not suggestive of infectious agents/protozoa or did not have lesions. In 25.8% (15) of the cases the losses were attributed to bacteria and in 24.1% (14) to protozoa (*Toxoplasma/Neospora*). The identified bacterial causes were *Escherichia coli*, *Leptospira* spp., *Trueperella pyogenes*, *Mannheimia haemolytica*, *Listeria ivanovii*, *Campylobacter jejuni* and *Providencia* sp. All 58 cases (100%) were negative for *C. abortus*, *C. fetus* and *Salmonella* spp. The identified non-infectious causes were dystocia in fetuses and the hypothermia-stress-starvation syndrome and trauma in lambs. Among the analyzed cases, aborted fetuses were more likely to be diagnosed with a bacterial/protozoal cause than lambs deceased in the perinatal stage ( $p < 0.05$ ). Through this study we identified bacterial, protozoal and non-infectious causes of abortion and perinatal death in sheep from Argentina. Further studies including larger number of cases are needed to determine if the losses continue to present a similar distribution when the number of cases analyzed increases and/or to identify causes of abortion or perinatal mortality not yet identified in the country.

**Key words:** Sheep, abortions, perinatal death, *Chlamydia abortus* apparent seroprevalence, *Leptospira* spp. seroprevalence.

## 1. INTRODUCCIÓN

### 1.1. Generalidades.

En el mundo existen alrededor de 1000 millones de ovinos, los cuales son importantes para la subsistencia y generación de ingresos, representando más del 70% de la producción ganadera en países en desarrollo (Pugh, 2011; Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación [FAO], 2018). Esta especie se adapta a una amplia gama de condiciones climáticas y geográficas contando con gran prolificidad, siendo capaz de utilizar una gran variedad de alimentos a veces no aprovechables por otras especies de animales de producción (Kosgey *et al.*, 2006). A su vez, se ha observado un aumento en la producción total de fibra y carne de pequeños rumiantes, debido a un aumento del número total de cabezas, pero no a una mayor eficiencia productiva (Pollott y Wilson, 2009; FAOSTAT, 2011).

En Argentina, la producción ovina tiene gran relevancia dentro del sistema agropecuario. Existen alrededor de 15 millones de ovinos, 80% de los cuales se encuentra en la Patagonia, mientras que gran parte del porcentaje restante se encuentra distribuido en las regiones Pampeana (mayormente en la provincia de Buenos Aires), Mesopotámica y Noroeste (Ministerio de Agricultura, Ganadería y Pesca [MAGYP], 2021). La Patagonia es una región semiárida, donde la producción ovina se realiza en forma extensiva, con grandes majadas, baja carga animal y dedicada mayormente a la producción de lana, siendo la carne un producto secundario. Por otra parte, se encuentran las regiones Centro, Noreste y Noroeste del país, con clima templado y subtropical donde la actividad ovina es semi-intensiva y se centra en la producción de carne, complementándose con otras actividades, sean estas de enfoque empresarial o familiar de subsistencia. Los sistemas de producción en la provincia de Buenos Aires y la región Mesopotámica se caracterizan por ser mixtos agrícola-ganaderos (típicamente trigo-ovinos) y mixtos ganaderos (típicamente bovinos-ovinos), respectivamente. En la zona cordillerana norte también se encuentran sistemas ganaderos mixtos ovino-caprino-camélidos sudamericanos (Mueller, 2013; SENASA, 2017). En todas estas regiones colectivamente se producen anualmente 16579 y 76014 toneladas de carne y lana, respectivamente, que son los principales productos derivados de la producción ovina en nuestro país. Sumado a esto, la producción de leche ovina viene incrementándose progresivamente (SENASA, 2017).

## **1.2. Situación del aborto y muerte perinatal ovina a nivel mundial y nacional.**

Las mermas generadas por los abortos y muertes perinatales causan importantes pérdidas económicas y son una de las principales limitantes de la eficiencia biológica y de la producción ovina a nivel mundial. Por este motivo, el monitoreo y caracterización de estas mermas es de suma importancia (Grooms y Bolin, 2005; Grooms, 2006; Kosgey *et al.*, 2006; Subharat *et al.*, 2011). A pesar de ello, se encuentran pobremente documentadas en Argentina.

Las causas de aborto y muertes perinatales en ovinos, y sus frecuencias relativas, como es de esperarse, varían en los diferentes países siendo identificadas causas infecciosas/protozoarias en 37 al 48% de los casos investigados (Kirkbride, 1993; Moeller, 2001; Buxton *et al.*, 2002; Chanton-Greutmann *et al.*, 2002; Szeredi *et al.*, 2006; Masala *et al.*, 2007; Van den Brom *et al.*, 2012). Estas cambian a lo largo del tiempo en función de cambios en el clima, sistemas de producción, introducción de nuevos agentes infecciosos o aplicación de nuevas medidas de control y prevención (vacunación) de enfermedades en las majadas (Vellema y Van den Brom, 2014). Se considera que, bajo condiciones productivas y sanitarias óptimas, la proporción de abortos no debería superar el 2-5%. Tasas del 5-10% deberían ser consideradas elevadas y podrían presentarse en rebaños con enfermedades infecciosas reproductivas endémicas. Por otro lado, cuando algunos patógenos ingresan por primera vez en un rebaño, se pueden dar las condiciones para presentaciones epidémicas (“tormentas”) de abortos, afectando a una gran cantidad de vientres (20-30% o más) en un corto período (Gerber *et al.*, 2007; Menzies, 2011).

En ocasiones las pérdidas reproductivas pasan desapercibidas en condiciones de manejo extensivas. Los abortos en pequeños rumiantes pueden ser causados por diversos agentes infecciosos (virus, bacterias), protozoarios y no infecciosos (Givens y Marley, 2008; Holler, 2012). Estudios realizados en otros países, determinaron la importancia de los abortos de origen infeccioso/protozoario en ovinos, siendo algunos de los agentes involucrados: *Salmonella enterica*, *Brucella ovis*, *Brucella melitensis*, *Listeria monocytogenes*, *Campylobacter fetus*, *Campylobacter jejuni*, *Coxiella burnetii*, *Chlamydia abortus* (ex *Chlamydophila abortus* y *Chlamydia psittaci* serovar 1), *Leptospira* spp., *Toxoplasma gondii*, *Neospora caninum*, *Pestivirus*, *Orbivirus* y *Ortobunyavirus*, entre otros (Chattopadhyay *et al.*, 2001; Gorchs y Lager, 2001; Masala *et al.*, 2005; Szeredi *et al.*, 2006; Givens y Marley, 2008; Holler, 2012; Barrett *et al.*, 2015; Maclachlan y Osburn, 2017). Cabe considerar que varios de estos patógenos son zoonóticos (Longbottom y Coulter, 2003; Baud *et al.*, 2008; Roest *et al.*, 2011;



Hazlett *et al.*, 2013; Borel *et al.*, 2018) y, como tales, su monitoreo tiene importancia en salud pública.

Por su parte, las pérdidas ocasionadas por la mortalidad perinatal de corderos derivan no sólo de la muerte y reducción del número de corderos disponibles para venta o reposición, sino también de pérdidas productivas ocasionadas por ovejas que habiendo gestado y parido finalmente no crían, destetan o señalan un cordero. Se estima que alrededor del 80-85% de los costos productivos se efectúan antes de que se produzca el parto (Dutra *et al.*, 2007). A su vez, el intento por aumentar la prolificidad de las ovejas con el fin de mejorar el porcentaje de señalada puede ser contrarrestado por una mayor mortalidad de los corderos nacidos en partos múltiples, lo cual puede ser cuestionable desde el punto de vista ético y del bienestar animal (Alexander, 1984; Mari, 1989).

Las causas de mortalidad perinatal descritas en otros países son diversas, estando representadas tanto por agentes infecciosos/protozoarios como no infecciosos. En Uruguay, Australia, Nueva Zelanda, Sudáfrica y muchos otros países productores de ovinos, las muertes perinatales de corderos se estiman en un 20%, con una variación del 14 al 32% según los años y los predios (Dennis, 1974; Mari, 1989; Cloete *et al.*, 1993; Dalton *et al.*, 1993). El 90 a 95% de las muertes ocurren durante los primeros 3 días de vida. A pesar de la marcada mejora en la nutrición, manejo de las ovejas y corderos, y manejo sanitario, esta alta tasa de mortalidad perinatal sigue siendo un problema productivo (Dutra *et al.*, 2007).

En Argentina, trabajos realizados por Olaechea *et al.* (1983) y, posteriormente, por Robles y Olaechea (2001) indicaron que la mortalidad perinatal es un problema que afecta seriamente la eficiencia productiva de los establecimientos ganaderos ovinos. No obstante, los estudios de relevamiento de las causas que intervienen en ella son escasos. A su vez, algunos estudios realizados en el grupo de Sanidad Animal de la Estación Experimental Agropecuaria (EEA) de INTA Balcarce, Argentina, indican que hay agentes infecciosos y protozoarios involucrados como causales de este tipo de mermas en la producción, y que en algunos casos pasarían desapercibidas o serían atribuidas a otros factores (Fiorentino *et al.*, 2003; Fiorentino, Hecker *et al.*, 2015; Recalt *et al.*, 2016; Hecker *et al.*, 2019).

Llegar al diagnóstico etiológico de un episodio de aborto en los ovinos, tiene similares dificultades que en los bovinos. El aborto se puede originar a partir de una infección en la madre, que pudo haber ocurrido semanas o incluso meses antes, la cual generalmente suele pasar desapercibida. Una vez producida la muerte fetal, el

feto puede ser expulsado o permanecer retenido en el útero, en cuyo caso avanzan los procesos autolíticos, dificultando luego la observación de lesiones que, de haber existido, pueden no ser evidenciadas en estudios histopatológicos, así como también se dificulta la identificación de los agentes causales por métodos de diagnóstico convencionales (Dubey, 2009). En ocasiones, en condiciones de campo, ni siquiera es posible la detección del feto abortado o la placenta para ser analizados, siendo esto agravado en situaciones extensivas o ante la presencia de animales carroñeros. Incluso cuando estos son recuperados para análisis de laboratorio, los diagnósticos etiológicos de abortos y muertes perinatales en ovinos se alcanzan en 39 a 56% de los casos (Kirkbride, 1993; García Pérez *et al.*, 1998; Vidić *et al.*, 2007). En el caso de los abortos y muertes perinatales de origen bacteriano, el aislamiento y tipificación continúa siendo la técnica de referencia para la identificación de los agentes involucrados a nivel de género y especie. A pesar de esto, el aislamiento del agente causal puede presentar limitantes, por lo cual se requieren otros métodos de diagnóstico como las técnicas de inmunohistoquímica, inmunofluorescencia, hibridación *in situ* y/o moleculares, que en ocasiones incluso aumentan la sensibilidad de detección y la eficiencia del diagnóstico (West *et al.*, 2002; Diab y Uzal, 2007).

### **1.3. Causas bacterianas y protozoarias de aborto y muerte perinatal.**

#### **1.3.1. *Chlamydia abortus*.**

*Chlamydia abortus* es una bacteria que infecta a ovinos, pero también a otras especies de mamíferos como bovinos, caprinos, cerdos y humanos. En ovinos la enfermedad causada por este patógeno es conocida como aborto enzoótico ovino (AEO) y provoca importantes pérdidas productivas dadas por abortos y nacimientos prematuros (Storz y Kaltenboeck, 1993; Aitken, 2000; Longbottom y Coulter, 2003; Al-Qudah *et al.*, 2004; Corsaro y Venditti, 2004; Rodolakis y Yousef Mohamad, 2010; Longbottom *et al.*, 2013; Van Der Linden, 2013; Hireche *et al.*, 2014; Essig y Longbottom, 2015; Burnard y Polkinghorne, 2016; Borel *et al.*, 2018).

El AEO es una enfermedad de declaración obligatoria tanto ante las autoridades sanitarias de Argentina (Resolución 422/2003) como de la Organización Mundial de Sanidad Animal (OIE, 2020). Los relevamientos de *C. abortus* en los animales de producción de Argentina son escasos, abarcando únicamente a caprinos y bovinos (Fiorentino, Brunello *et al.*, 2015; Rojas *et al.*, 2018; Di Paolo *et al.*, 2019). Sin embargo, también hay reportes de *C. abortus* en psitácidos de la provincia de Buenos Aires (Origlia *et al.*, 2019). Debido a esto, existen evidencias de que esta bacteria

circula en el país, sin embargo, hasta el momento se desconoce el real impacto del AEO en rebaños argentinos (Fiorentino *et al.*, 2003; Bedotti *et al.*, 2008).

En cuanto a la transmisión de *C. abortus*, se da por medio de la ingestión de alimentos o inhalación de aerosoles contaminados (Aitken *et al.*, 1990; Rodolakis, 2006). Esta bacteria infecta a las células epiteliales, monocitos y macrófagos, y en individuos gestantes posee un marcado tropismo por las células trofoblásticas de la placenta, llegando a la misma mediante bacteriemia (Rodolakis *et al.*, 1998; Longbottom y Coulter, 2003). Las lesiones se encuentran principalmente en las membranas placentarias, sin embargo, la gravedad del daño está influenciada por el momento y grado de infección, lo que perjudica la integridad funcional del hilio de los placentomas, afectando el intercambio materno-fetal de nutrientes y oxígeno, y el equilibrio hormonal (McEwen *et al.*, 1951; Leaver *et al.*, 1989; Buxton *et al.*, 2002; Navarro *et al.*, 2004). En los fetos afectados pueden encontrarse lesiones en el cerebro, los pulmones y el hígado (Buxton *et al.*, 2002). Sin embargo, las ovejas infectadas no suelen mostrar signos clínicos de la enfermedad antes del aborto, aunque pueden observarse cambios de conducta y secreciones vaginales 48 h antes de la expulsión fetal. Estas descargas pueden continuar durante 2 a 3 semanas, lo que favorece la contaminación ambiental (Nietfeld, 2001; Buxton *et al.*, 2002; Longbottom y Coulter, 2003; Borel *et al.*, 2006).

El ciclo de desarrollo de *C. abortus* es intracelular bifásico, constando de dos formas morfológicas distintas, el cuerpo elemental (CE) y el cuerpo reticular (CR), que se adaptan específicamente a los entornos extracelular e intracelular, respectivamente (Longbottom y Coulter, 2003). El CE es la forma infecciosa de la bacteria, es de tamaño pequeño (200-300 nm de diámetro) y metabólicamente inactivo. El CE ingresa por la vía oronasal del hospedador susceptible y establece primoinfección en las tonsilas palatinas, posteriormente se disemina por la sangre y la linfa a otros órganos (Gutiérrez *et al.*, 2011; Longbottom *et al.*, 2013). Al ingresar a la célula hospedadora, el CE queda dentro de un cuerpo de inclusión intracitoplasmático y luego se transforma en CR. Este último es más grande (500-1000 nm de diámetro), no es infeccioso, pero es metabólicamente activo. El CR se multiplica por fisión binaria, llenando rápidamente el cuerpo de inclusión, lo que aumenta el tamaño de la célula infectada. Hacia el final del ciclo de desarrollo, los CR se transforman nuevamente en CE, que luego se liberan por lisis o exocitosis y continúan infectando las células vecinas (Beatty *et al.*, 1994; Longbottom y Coulter, 2003). Algunos estudios *in vitro* han informado que bajo condiciones de estrés, como el agotamiento de nutrientes (Raulston, 1997),

coinfecciones con virus (Deka *et al.*, 2006; Borel *et al.*, 2010) o protozoos (Romano *et al.*, 2013), o exposición a antibióticos (Gieffers *et al.*, 2004), citocinas (Beatty *et al.*, 1994) u hormonas (Amirshahi *et al.*, 2011), las diversas especies de *Chlamydia* desarrollan CR pleomórficos, de mayor tamaño a los habituales, que no se someten a fisión binaria, ni se diferencian de nuevo a CE. Dichas estructuras son conocidas como cuerpos aberrantes (CA). Una característica especialmente intrigante de la patogenia del AEO es que *C. abortus* es capaz de establecer una infección latente o persistente en tejidos linfoides, siendo indetectable en ovejas no preñadas después de la infección oronasal con una baja carga bacteriana (Longbottom *et al.*, 2013). Asimismo, la primoinfección de ovejas en las últimas 5-6 semanas de gestación a menudo conduce al desarrollo de una infección latente, donde las ovejas parecen no estar infectadas hasta la próxima gestación (Aitken *et al.*, 1990).

La infección latente o persistente no provoca cambios patológicos hasta después del día 90 de gestación, cuando los organismos se reactivan, lesionando la placenta, y en última instancia provocando el aborto (Stamp *et al.*, 1950; Jones *et al.*, 1995; Buxton y Henderson 1999; Buxton *et al.*, 2002; Sammin *et al.*, 2006). La infección con *C. abortus* en ovejas preñadas hasta 5-6 semanas antes del parto puede provocar el aborto en las últimas 2-3 semanas de esa gestación, o el nacimiento de corderos muertos o débiles que mueren frecuentemente en los primeros días de vida (Aitken *et al.*, 1990). Sin embargo, las corderas sobrevivientes nacidas de madres infectadas pueden verse afectadas por AEO en su primera gestación (Wilsmore *et al.*, 1990).

### **1.3.2. *Escherichia coli* y *Providencia* sp.**

Estas son bacterias oportunistas que pueden provocar abortos esporádicos y muerte de animales durante los primeros días de vida (Campero *et al.*, 1993, Campero *et al.*, 2003, Yaeger y Holler, 2007). Estos agentes se encuentran en el medio ambiente o superficies mucosas y generalmente no están asociados a enfermedades significativas en el animal adulto, siendo parte de la microbiota normal. Sin embargo, en animales jóvenes algunas cepas pueden ocasionar diarrea que es una de las principales causas de morbilidad y mortalidad (Canizalez Román *et al.*, 2016; Cho y Yoon 2014; Aiello y Moses 2016). En el caso de *E. coli* se establecen en el intestino, pudiendo provocar diarrea y septicemia mediadas por sus toxinas y otros factores de virulencia (Nagy y Fekete, 2005; Kopic y Geibel, 2010); mientras que *Providencia* sp. puede provocar infecciones del tracto urinario, septicemia y diarrea (O'Hara *et al.*, 2000).

### **1.3.3. *Leptospira* spp.**

La leptospirosis es una enfermedad zoonótica de distribución mundial siendo considerada una de las principales patologías que provocan pérdidas económicas (Suepaul *et al.*, 2011; Adler 2015; Ellis, 2015). Las manifestaciones clínicas varían de acuerdo con el estadio de la enfermedad, siendo la presentación aguda poco frecuente en ovinos (Singh *et al.*, 1983; Ellis, 2015; Dutra, 2017). Sin embargo, su diagnóstico temprano es crítico, por el riesgo de complicaciones severas que conlleva (Ko *et al.*, 1999; Laras *et al.*, 2002).

La enfermedad puede cursar con fiebre, anorexia, diarrea, lagrimeo, conjuntivitis, encefalitis, anemia, hemorragias, ictericia, hemoglobinuria, nefritis, mastitis, agalactia, dermatitis, meningitis, muerte embrionaria, disminución de la fertilidad, aborto, nacimiento de animales débiles, poliartritis, neumonía atípica e inflamación de las vías respiratorias (Health y Jonson, 1994; Draghi, 2012; Ellis, 2015).

En cuanto a la diseminación del agente, está relacionado con factores ambientales (humedad, suelos anegadizos con pH neutro o ligeramente alcalino) y presencia de animales portadores o infectados (Levett, 2001; Adler y De la Pena Moctezuma, 2010; Calderon *et al.*, 2014; Ellis, 2015). La transmisión de la bacteria ocurre por contacto con orina infectada o ambientes contaminados (Brihuega *et al.*, 2008; Adler y De la Pena Moctezuma, 2010). La penetración de leptospiras se produce por lesiones cutáneas, piel reblandecida, membranas mucosas o también podría transmitirse en forma venérea (Hartskeerl *et al.*, 2011; Hamond *et al.*, 2014). Los mecanismos de resistencia o susceptibilidad a la leptospirosis en diferentes hospedadores aún no se han determinado, pero podrían estar relacionados con factores del huésped y/o del agente etiológico (Ristow *et al.*, 2008; Monahan *et al.*, 2009; Suepaul *et al.*, 2011; Brihuega *et al.*, 2012; Dos Santos *et al.*, 2012).

Los ovinos son susceptibles a la enfermedad y también pueden ser reservorios del agente, habiéndose detectado leptospiras por métodos directos en la orina y riñones (De Carvalho *et al.*, 2011; Arent *et al.*, 2013).

### **1.3.4. *Trueperella pyogenes* y *Mannheimia haemolytica*.**

Ambos agentes pueden causar bronconeumonía, a veces en infecciones mixtas por virus respiratorios. Estos agentes producen un gran impacto económico, ya sea por bajas en la productividad, la muerte de los animales o el costo del tratamiento (Ackermann y Brodgen, 2000; López Gallego, 2003; Ayelet *et al.*, 2004; Ozbey *et al.*,

2004; Bell, 2008; Smith, 2010). Si bien los productores de diferentes regiones del país consideran de importancia los problemas respiratorios en ovinos (Suarez *et al.*, 2011), son escasos los reportes de enfermedad respiratoria en esta especie (Arrigo *et al.*, 1984; Margineda *et al.*, 2015; Martínez *et al.*, 2019). En el caso de *T. pyogenes* y *M. haemolytica* son bacterias comensales del tracto respiratorio de bovinos, ovinos y otros rumiantes (Bowland y Shewen, 2000; McGavin y Zachary, 2007; Rice *et al.*, 2008; Lindström *et al.*, 2018). Sin embargo, cuando existen factores predisponentes tales como estrés, inadecuado calostrado, inclemencias climáticas, o infección por determinados virus respiratorios (Thompson *et al.*, 1977; Jost y Billington, 2005; Songer y Post, 2005; Lacasta *et al.*, 2008; Quinn *et al.*, 2011; Martínez *et al.*, 2019), puede desencadenarse la enfermedad, que se caracteriza por fiebre alta, tos, disnea, secreción nasal mucopurulenta, anorexia y depresión (Brogden *et al.*, 1998; Ackermann y Brodgen, 2000; Radostits *et al.*, 2006; Bell 2008; Dassanayake *et al.*, 2009; Dassanayake *et al.*, 2013). A su vez, *T. pyogenes* también puede ocasionar infecciones supurativas que incluyen abscesos, artritis, endocarditis, mastitis, metritis, osteomielitis y vasculitis (Brodzki *et al.*, 2014; Cohen *et al.*, 2015).

### **1.3.5. *Listeria* spp.**

La listeriosis es causada por especies patógenas del género *Listeria*, notablemente *L. monocytogenes* y *L. ivanovii*. En cuanto a *L. ivanovii*, se encuentra en el medio ambiente mediante un ciclo continuo de enriquecimiento fecal-oral (Elischerová *et al.*, 1990; Sergeant *et al.*, 1991; Alexander *et al.*, 1992; Gill *et al.*, 1997; Chand y Sadana, 1999; Brugère-Picoux, 2008), resistiendo la congelación, descongelación y pudiendo sobrevivir durante varios años en heces, ensilados y suelos (Radostits *et al.*, 2006). La infección ocurre por vía oral luego de la ingestión de alimentos o agua contaminados, y es particularmente común en rumiantes alimentados con ensilaje en mal estado (Low y Donachie, 1997; Vázquez-Boland, 2001; Rawool *et al.*, 2007). Mientras que *L. monocytogenes* infecta tanto a humanos como a animales, causando meningoencefalitis, sepsis, aborto, gastroenteritis y mastitis (Radostits *et al.*, 2006; Alexander *et al.*, 1992), *L. ivanovii* infecta predominantemente a pequeños rumiantes causando septicemia, enteritis y aborto, siendo la principal lesión microscópica en el feto abortado la bronconeumonía (Guillet *et al.*, 2010). Sin embargo, en animales adultos no gestantes puede ser asintomática (Ivanov, 1962; Gill *et al.*, 1997). *Listeria ivanovii* ha sido descrita como causante de abortos esporádicos en bovinos y humanos (Snapir *et al.*, 2006; Vázquez-Boland *et al.*, 2001).

### **1.3.6. *Campylobacter jejuni*.**

En la mayoría de los países productores de ovinos, *Campylobacter* es una de las causas más frecuentes de aborto (Poland, 2004). Dentro de las especies patógenas se encuentra *C. jejuni*, que puede infectar a las ovejas gestantes luego de la ingestión de alimentos o agua contaminados con productos del aborto, descargas uterinas o heces de animales portadores (Smibert, 1969). Esta bacteria se encuentra comúnmente en el contenido intestinal, vesícula biliar o heces de ovejas sanas, sin embargo, algunas cepas pueden causar infecciones sistémicas asociadas a brotes de aborto en ovejas y abortos esporádicos en bovinos y caprinos (DeLong *et al.*, 1996; Stanley *et al.*, 1998; Colles *et al.*, 2003; Stanley y Jones, 2003; Zweifel *et al.*, 2004; Acik y Cetinkaya, 2006; Sahin *et al.*, 2008; Burrough *et al.*, 2009; Grove-White *et al.*, 2010; Sahin *et al.*, 2012).

Después de la exposición inicial, puede ocurrir una bacteriemia seguida de placentitis, infección fetal y aborto en el último tercio de la gestación (Russell, 1955; Stansfield *et al.*, 1986; Skirrow, 1994; DeLong *et al.*, 1996). La bacteria es muy contagiosa y puede ocurrir que hasta el 50% de las ovejas aborten cuando el patógeno se introduce por primera vez en un rebaño (Dennis, 1990). A pesar de esto, luego de una tormenta de abortos inicial, la inmunidad poblacional puede limitar la enfermedad (Sahin *et al.*, 2012).

### **1.3.7. Protozoos apicomplejos (*Apicomplexa*).**

Dentro de este grupo hay tres patógenos abortivos ovinos: *T. gondii*, *N. caninum* y *Sarcocystis* spp. En esta tesis al referirnos a protozoarios apicomplejos sólo haremos alusión a los primeros dos, que son los abordados en la misma. *Toxoplasma gondii* es un parásito intracelular obligado con distribución mundial. Tiene tres estadios infecciosos: taquizoítos, bradizoítos y ooquistes esporulados (con ocho esporozoítos). Estas etapas están vinculadas a un ciclo de vida facultativo heteroxeno, donde los felinos actúan como huéspedes definitivos, mientras que prácticamente todas las especies de sangre caliente, incluidos los humanos, pueden actuar como huéspedes intermediarios (Amendoeira *et al.*, 2003; Dubey, 2009; Sibley *et al.*, 2009; Liu *et al.*, 2015). La principal vía de transmisión es la oral: los seres humanos y los animales pueden infectarse al ingerir quistes tisulares que contienen bradizoítos, de carne cruda o poco cocida, u ooquistes esporulados de diversas fuentes ambientales (suelo, agua, vegetales). En los seres humanos, la infección suele ser asintomática o causar síntomas leves similares a los de la gripe (Dong *et al.*, 2018). Sin embargo, la

toxoplasmosis puede poner en peligro la vida, especialmente en personas inmunosuprimidas (Lewis *et al.*, 2015; Hide, 2016). Además, si se adquiere durante el embarazo, la toxoplasmosis puede provocar aborto espontáneo o malformaciones congénitas que afecten al cerebro, los ojos u otros órganos del feto (Montoya y Liesenfeld, 2004). En los animales, la falla reproductiva ocurre cuando se ingieren ooquistes durante la gestación o menos frecuentemente por reactivación de quistes tisulares, lo que puede ocasionar abortos, momificación fetal, muerte embrionaria, malformaciones congénitas y mortinatos (Dubey, 2009; Pérez *et al.*, 2011; Hide, 2016).

En cuanto a *N. caninum*, estudios experimentales y observacionales indican que es una causa importante de aborto en rumiantes. A pesar de esto, la importancia epidemiológica, clínica y económica en ovinos aún no se comprende completamente, pudiendo ser muchas veces subestimada en términos de pérdidas reproductivas (Moreno *et al.*, 2012; Arranz-Solís *et al.*, 2015; González-Warleta *et al.*, 2018). La infección en rumiantes se produce al ingerir alimentos o agua contaminados con ooquistes excretados en las heces de huéspedes definitivos infectados tales como perros, dingos y coyotes (los dos últimos no presentes en nuestro país) (Gondim *et al.*, 2004; King *et al.*, 2010). Sin embargo, también se puede dar la transmisión vertical o transplacentaria considerada de gran importancia, la cual ocurre cuando una madre crónicamente infectada transmite a su cría la infección durante la gestación (Moreno *et al.*, 2012; Almeria, 2013; Arranz-Solís *et al.*, 2015; Donahoe *et al.*, 2015; Porto *et al.*, 2016; Dubey *et al.*, 2017; González-Warleta *et al.*, 2018). En este sentido, si la infección se produce durante el primer y segundo tercio de la gestación, la tasa de aborto puede ser alta. Si la infección se da en el tercio final, puede presentarse el nacimiento de corderos prematuros infectados, débiles o clínicamente sanos, los cuales pueden morir durante el período perinatal (Jolley *et al.*, 1999; Benavides *et al.*, 2012; Arranz-Solís *et al.*, 2015; González-Warleta *et al.*, 2018)

En los rumiantes infectados el aborto es la principal manifestación clínica y se puede producir en forma enzoótica, asociado a frecuentes infecciones crónicas verticales, o epizoótica, en relación con infecciones agudas posnatales (Dubey *et al.*, 2007).

#### **1.4. Causas no infecciosas de aborto y muerte perinatal.**

Las causas no infecciosas de muerte son múltiples y pueden ocurrir durante cualquier momento de la gestación o en los primeros días de vida (muerte perinatal) (McFarlane, 1965). En relación con esto, el mayor número de pérdidas se produce



generalmente durante los primeros 3 días de vida inclusive, las cuales pueden estar asociadas a falta de ingestión de calostro y leche, secuelas de partos múltiples, mala aptitud materna, mala conformación de las ubres o pezones, edad y experiencia de las hembras, falta de sincronización al parto, entre otros factores. Por otro lado, las muertes también pueden estar asociadas a una mala relación madre-cría, nacimiento de corderos débiles, bajo peso al nacimiento, partos laboriosos y prolongados, distocia y factores climáticos (Noakes *et al.*, 2001; Banchemo *et al.*, 2007; Tortora, 2008).

A su vez, las muertes por distocia también pueden darse como consecuencia de traumatismos ocurridos durante el parto. Según lo establecido por Riet-Correa *et al.* (2007) las distocias son más frecuentes en corderos machos, con alto peso al nacimiento y en ovejas que llegan débiles al parto. También puede darse en casos de borregas con poco desarrollo de la pelvis, o cuando hay gran desproporción fetopélvica (Arthur *et al.*, 1991). La muerte del cordero puede ocurrir durante o inmediatamente después del parto, y generalmente es resultado del trauma, hipoxia o hipoglucemia por inanición que afecta al sistema nervioso central y a otros tejidos vitales (Dutra *et al.*, 2007).

Por lo hasta aquí expuesto, comprendemos que las pérdidas reproductivas en ovinos a nivel mundial son un problema relevante y se deduce la necesidad de conocer qué agentes son responsables de abortos y muertes perinatales en ovinos de nuestro país.

## 2. HIPÓTESIS

*“El análisis serológico permite estimar la seroprevalencia aparente de bacterias abortivas en majadas de Argentina, y la investigación diagnóstica de abortos y muertes perinatales en ovinos del país permite la identificación de causas bacterianas, protozoarias y no infecciosas de estas pérdidas”.*

### 3. OBJETIVOS

#### 3.1. Objetivo general.

Estimar la seroprevalencia aparente de *C. abortus* y *Leptospira* spp. en tambos ovinos de la provincia de Buenos Aires, e identificar causas de aborto y muerte perinatal en ovinos de Argentina.

#### 3.2. Objetivos particulares.

Determinar la seroprevalencia aparente de *C. abortus* y *Leptospira* spp. en majadas ovinas lecheras de la provincia de Buenos Aires en el año 2017.

Evaluar si existe asociación entre la seropositividad a *C. abortus* y *Leptospira* spp., la categoría de los animales, el tamaño de la majada y la raza en majadas de ovinos lecheros de la provincia de Buenos Aires.

Realizar un seguimiento de hembras ovinas seropositivas a *C. abortus* al momento del servicio, para evaluar su estado serológico y la eliminación vaginal de *Chlamydia* spp. luego de la parición del mismo ciclo productivo, en una majada de la provincia de Buenos Aires.

Identificar causas bacterianas, protozoarias y no infecciosas de aborto y muerte perinatal en ovinos remitidos al Laboratorio de Bacteriología del Servicio de Diagnóstico Veterinario Especializado de la EEA del INTA Balcarce.

Evaluar si entre los casos recibidos los fetos abortados o los corderos muertos en la etapa perinatal tuvieron mayor probabilidad de ser diagnosticados con una causa bacteriana/protozoaria o no infecciosa de muerte.

## 4. MATERIALES Y MÉTODOS

### **4.1. Determinación de la seroprevalencia aparente de *C. abortus* y *Leptospira* spp.**

Según una encuesta realizada por INTA Anguil en el año 2007-2008, la provincia de Buenos Aires contaba con 26 tambos ovinos con un total de 1999 ovejas en ordeño (Buseti y Suárez, 2009), de los cuales 27% (7 tambos) pertenecía a instituciones del estado (INTA, universidades, escuelas agrotécnicas) y 42% (11 tambos) poseía majadas de menos de 25 animales. Para esta tesis se utilizó un banco de sueros ovinos cedidos por la Unidad Ejecutora Provincial de la Ley Ovina, lo que representó el 30,8% (8 tambos) de los 26 tambos declarados en dicha encuesta. Las muestras se utilizaron para determinar la seroprevalencia aparente de *C. abortus* y *Leptospira* spp. El banco usado contenía 1098 sueros de ovejas y borregas procedentes de 8 tambos ovinos ubicados en distintos partidos de la provincia de Buenos Aires (Tabla 1). Las muestras habían sido recolectadas en el año 2017 y correspondían a las razas Frisona Milchschaef y Pampinta. Se seleccionaron al azar y analizaron 73 sueros de ovejas y borregas por cada uno de los 8 establecimiento, sin embargo, cuando el número de ejemplares por majada fue menor se analizó el total, analizándose 485 muestras (Tabla 1). A su vez, cuando fue posible se asignó el número de borregas y ovejas adultas en forma proporcional a su contribución en cada rebaño. En total se analizaron 393 ovejas y 92 borregas. Con respecto al tamaño de las majadas de origen de las muestras, aquellas con 34-84 hembras fueron consideradas majadas chicas, y aquellas con 196-371 hembras fueron consideradas majadas grandes (Tabla 1).

Tabla 1. Número total y analizado de hembras ovinas procedentes de 8 tambos ubicados en distintos partidos de la provincia de Buenos Aires, Argentina, según raza y categoría.

Partido	Raza	Hembras totales <sup>1</sup>	Hembras analizadas		
			Borregas	Ovejas	Total
Cañuelas	Frisona Milchschaf	35	13	22	35
Maipú	Frisona Milchschaf	84	- <sup>2</sup>	73	73
San Miguel del Monte	Frisona Milchschaf	62	- <sup>2</sup>	62	62
Tandil	Frisona Milchschaf	34	- <sup>2</sup>	34	34
Balcarce	Pampinta	62	20	42	62
Bolívar	Pampinta	254	21	52	73
Magdalena	Pampinta	196	15	58	73
Pehuajó	Pampinta	371	23	50	73
Total		1098	92	393	485

<sup>1</sup> No incluye corderas; los 5 predios con  $\leq 84$  hembras fueron considerados majadas chicas, <sup>2</sup> -: no contaban con la categoría borrega.

#### 4.1.1. Seroprevalencia aparente de *Chlamydia abortus*.

Para la estimación de la seroprevalencia aparente de *C. abortus* se utilizó una prueba comercial de ELISA indirecto ("IDEXX Chlamydiosis Total Ab Test", EEUU), siguiendo las especificaciones del fabricante. Este kit posee pocillos de microtitulación, recubiertos con un antígeno de *C. abortus* que permite detectar IgG generada contra dicho agente. Según el fabricante, el kit tiene una sensibilidad de entre 89 y 95% y una especificidad del 100%, determinadas en poblaciones caprinas de regiones geográficas que no incluyen a Argentina. Sin embargo, estudios independientes realizados en ovinos y bovinos sugieren que la especificidad de un kit de ELISA comercializado por IDEXX basado en antígeno completo (Bommana *et al.*, 2019) como el usado en esta tesis sería considerablemente menor a la indicada por el fabricante.

Para realizar el diagnóstico serológico, tanto los sueros problema como los controles fueron diluidos (1:400) con solución tampón de lavado (1:10) provista por el fabricante y posteriormente agregados en los pocillos (100  $\mu$ L/pocillo). Las placas fueron incubadas por 1 h en estufa a 37°C, lavadas 3 veces con solución tampón de lavado y luego se procedió a agregar un anticuerpo anti-IgG de rumiantes conjugado

con peroxidasa de rábano picante (100 µL/pocillo) provisto por el fabricante. Luego de 1 h de incubación a 37°C, las placas fueron lavadas 3 veces y se agregaron 100 µL de la solución de sustrato (3,3',5,5'-tetrametilbencidina) a cada pocillo. Después de incubar a temperatura ambiente durante 15 min., se procedió al frenado de la reacción agregando 100 µL/pocillo de la solución de frenado provista por el fabricante. La lectura de la densidad óptica (DO) fue realizada en un lector de microplacas (Titertek, Multiskan, ICN, Finlandia) con filtro A450.

El resultado final se obtuvo considerando la DO de los pocillos con muestra y con la DO de los pocillos que contenían los controles positivo y negativo. Se calculó dividiendo la absorbancia de las muestras por la absorbancia media del control positivo (corregidas ambas por la absorbancia media del control negativo), que da como resultado un valor de S/P como se expresa a continuación:

$$S/P (\%) = (DO \text{ muestra} - DO \text{ control negativo} / DO \text{ control positivo} - DO \text{ control negativo}) \times 100$$

La interpretación de los resultados se realizó siguiendo las recomendaciones del fabricante. Las muestras con un valor de S/P < 30% se consideraron negativas, mientras que las muestras con un valor de S/P ≥ 40% se consideraron positivas. Muestras con un valor de S/P ≥ 30% y < 40% se consideraron sospechosas (consideradas negativas al momento del cálculo de prevalencia aparente). Estos puntos de corte provistos por el fabricante del kit no fueron obtenidos de poblaciones de ovinos de Argentina.

La prevalencia aparente determinada por esta vía no fue sometida a ajuste por sensibilidad y especificidad del ELISA para calcular la prevalencia real. En consecuencia, cuando nos referimos a la prevalencia calculada en esta tesis nos referimos a prevalencia aparente, y no a prevalencia real, excepto que lo especifiquemos.

#### **4.1.2. Seroprevalencia de *Leptospira* spp.**

Para determinar la seroprevalencia de *Leptospira* spp. se utilizó la técnica de microaglutinación en tubo (MAT), considerada la prueba de referencia para la detección de anticuerpos en el diagnóstico de leptospirosis (Chappel, 1998). Esta prueba permite la detección de anticuerpos IgM e IgG (International Office of Epizootics [OIE], 2008) y tiene una sensibilidad del 93,2% y una especificidad del 100% (Bajani *et al.*, 2003).

Se evaluaron diferentes serogrupos-serovares de referencia adecuados para la especie ovina y para la zona, representantes de las especies *L. interrogans*, *L. kirschneri* y *L. borgpetersenii*, incluyendo Ballum Castellonis, Canicola Canicola, Grippotyphosa Grippotyphosa, Icterohaemorrhagiae Copenhageni, Pomona Pomona, Sejroe Wolffii, Sejroe Hardjo y Tarassovi Tarassovi (Schust *et al.*, 2011; OIE, 2014).

Como antígenos se utilizaron cultivos vivos con densidades aproximadas a  $2 \times 10^8$  leptospiras/mL utilizándose cepas originalmente cedidas por el Laboratorio de Leptospirosis del INTA Castelar. Las serovariedades de referencia fueron cultivadas en medio de cultivo líquido Ellinghausen-McCullough-Johnson-Harris (EMJH) a  $29 \pm 1^\circ\text{C}$  durante 4 a 8 días. Previo al desarrollo de la técnica los antígenos fueron observados bajo microscopio de campo oscuro (NIKON Eclipse e200) con objetivo 10x y 40x a fin de confirmar vitalidad y grado de contaminación.

Para el desarrollo de la técnica, se realizó una dilución del suero incógnita (100  $\mu\text{L}$  de suero en 4,9 mL de solución salina tamponada con fosfato -PBS- de pH 7,2). Luego se tomaron 100  $\mu\text{L}$  de dicha dilución y se colocaron en tubos de vidrio, añadiendo posteriormente 100  $\mu\text{L}$  de cada antígeno (1 tubo por serogrupo-serovar de referencia), logrando una dilución final del suero de 1/100. Para los controles negativos se utilizaron 100  $\mu\text{L}$  de PBS adicionando 100  $\mu\text{L}$  de cada antígeno (1 tubo por serogrupo-serovar de referencia). Los tubos fueron incubados a  $30 \pm 1^\circ\text{C}$  durante 2 horas. No se incluyeron controles positivos lo cual no es un requerimiento para la validación de resultados en la técnica de MAT (OIE, 2018b).

La observación de microaglutinación se realizó con microscopio óptico (NIKON Eclipse e200) con sistema de campo oscuro con objetivo de 10x. El título de punto final se definió como la dilución de suero que mostró al menos un 50% de aglutinación, dejando libres un máximo de 50% de las células bacterianas en comparación con el cultivo control.

#### **4.2. Determinación de la seroprevalencia aparente y seguimiento de animales seropositivos para evaluar excreción vaginal de *C. abortus* luego del parto.**

Debido a la facilidad de acceso a una de las 8 majadas incluidas en el estudio serológico, se realizó un seguimiento únicamente del tambo ovino ubicado en el partido de Balcarce (Tabla 1). En un primer muestreo realizado al momento del servicio en marzo de 2019, se extrajo sangre sin anticoagulante para la obtención de suero y detección de IgG contra *C. abortus* de las 20 borregas y 42 ovejas que

totalizaban las 62 hembras de este predio (Tabla 1). La serología se realizó mediante la metodología de ELISA mencionada en la sección 4.1.1 de esta tesis. Luego de realizado este primer muestreo y habiendo resultado 6 ovejas seropositivas, se realizó un segundo muestreo en octubre del mismo año coincidiendo con 1 mes luego de iniciada la temporada de partos. Para esto, se tomó una segunda muestra de sangre sin anticoagulante para obtener suero y detectar la presencia de anticuerpos contra *C. abortus* únicamente en las 6 ovejas que habían resultado seropositivas al primer muestreo con la misma metodología. También se realizaron al mismo momento y en estas 6 ovejas hisopados vaginales para detección de *C. abortus* a través de PCR anidada y detección de estructuras compatibles morfológicamente con *Chlamydia* spp. a través de la tinción de Ziehl Neelsen modificada (ZNm) (Stamp *et al.*, 1950). Las muestras de sangre sin anticoagulante fueron colocadas en tubos y una vez en el laboratorio fueron centrifugadas a 3500 rpm durante 10 min. para separar el suero, conservándolo a -20°C hasta su procesamiento mediante ELISA. Para las muestras de hisopados vaginales se procedió de la siguiente manera: dos hisopos estériles se introdujeron en la vulva de cada una de las 6 ovejas y se frotaron contra la pared vaginal durante 20 s. Luego, uno de los hisopos fue colocado en un tubo con 500 µL de agua bidestilada estéril para PCR y transportado refrigerado al laboratorio, donde fue mezclado mediante un agitador vórtex y centrifugado a 3500 rpm durante 5 min. Luego se eliminó el hisopo y se conservó el contenido en freezer de -80°C hasta el momento en el cual se realizó la extracción de ADN con el kit comercial “High Pure PCR Template Preparation®” (Roche LS, Alemania), y la PCR anidada correspondiente.

Con el otro hisopo, se realizó un extendido sobre un portaobjeto luego de tomada la muestra, fijándolo al calor de una llama y realizando la tinción de ZNm una vez en el laboratorio. A pesar del seguimiento realizado, no fue posible la recolección de fetos de este establecimiento.

#### **4.3. Determinación de las causas de abortos y muertes perinatales en ovinos.**

##### **4.3.1. Análisis de fetos, placentas y corderos.**

Durante dos temporadas de parto consecutivas (2018-2019), se examinaron 27 fetos y 9 placentas provenientes de 11 establecimientos. Además, se examinaron 31



corderos de hasta 3 días de vida procedentes de 7 establecimientos, 3 de los cuales también habían enviado al menos 1 feto. Los especímenes eran provenientes de majadas ubicadas en establecimientos de las provincias de Buenos Aires (n = 43), Corrientes (n = 13), Santa Fe (n = 1) y Entre Ríos (n = 1). Se tomaron datos tales como tamaño de la majada y manejo sanitario, y otra información considerada de importancia epidemiológica para diagnóstico del aborto y muerte perinatal en ovinos (ver sección de resultados).

#### 4.3.1.1. Necropsia, toma y análisis de muestras.

Se realizó la necropsia de 27 fetos abortados, de los cuales 4 provinieron de 2 gestaciones gemelares (es decir que representaban 25 madres abortadas), y de 31 corderos muertos en la etapa perinatal, en este último caso no se pudo corroborar si los corderos analizados eran hijos únicos. A su vez, se inspeccionaron macroscópicamente 9 placentas que acompañaban a 9 de los 27 fetos recibidos, que habían sido obtenidas de hembras abortadas. Previo a la necropsia, los fetos fueron pesados y medidos (longitud cráneo-coccígea) y se observó el grado de desarrollo del manto lanar y piloso, con el fin de estimar la edad gestacional (Roberts, 1986). Con estos datos, las pérdidas gestacionales fueron clasificadas en abortos de primer (15 a 60 días), segundo (> 60 a 110 días) o tercer (> 110 a 140 días) período de gestación (Robles, 2013). A su vez, la clasificación de los corderos que nacieron vivos y murieron durante los primeros días de vida se realizó en base a información suministrada por los productores y también de forma subjetiva en base al estado de deshidratación del cordón umbilical. Se registró el grado de autólisis en una escala subjetiva de tres grados: 1 (leve), 2 (moderada) y 3 (severa) (Roberts, 1986; Campero *et al.*, 2003), y se llevaron registros fotográficos de cada caso. También se registró la raza en cada caso.

En la Tabla 2 se resumen las muestras obtenidas durante las necropsias, siempre que fue posible las mismas fueron procesadas inmediatamente, en caso contrario fueron conservadas a -80°C hasta su procesamiento. Se realizó cultivo bacteriológico en busca de patógenos bacterianos asociados a pérdidas reproductivas (*Campylobacter* spp., *Salmonella enterica*, *Listeria* spp., entre otros). Para identificar estructuras compatibles con *Chlamydia* spp. se utilizó la tinción de ZNm e inmunofluorescencia directa (IFD) usando un kit comercial (*Chlamydia* Thermo Scientific™ IMAGEN™), siguiendo las especificaciones del fabricante. A su vez, se realizó la extracción de ADN por el método basado en columnas, utilizando el kit

comercial “High Pure PCR Template Preparation®” (Roche LS, Alemania) (posteriormente descrito), seguida de una PCR anidada (Sachse y Hotzel, 2003) para amplificación de ADN de *C. abortus* y *C. psittaci*. Para la detección de *Leptospira* spp. se aplicaron las técnicas de IFD y PCR en tiempo real, esta última está dirigida al gen 16S del ADNr ubicado entre la posición 171 y 258 lo que permite la detección de *Leptospira* spp. (Smythe *et al.*, 2002).

Para la detección de ADN de *N. caninum*, se llevó a cabo una PCR anidada de un solo tubo, que está dirigida a la región del espaciador transcrito interno 1 (ITS1), previamente descrito por Buxton *et al.* (1998). Para la detección de ADN de *T. gondii* se siguió el protocolo de PCR descrito por Moré *et al.* (2010), dirigido al gen B1. Además, sobre muestras de líquidos de cavidades obtenidas postmortem en fetos y/o corderos, se utilizó la técnica de inmunofluorescencia indirecta (IFI) para la detección de anticuerpos IgG anti-*N. caninum* y anti-*T. gondii* (Tabla 2) usando metodologías previamente descritas por Hecker *et al.* (2019).

Durante las necropsias se recolectaron además muestras de placenta, hígado, encéfalo, corazón, pulmón, bazo, riñón, glándula adrenal, timo, músculo esquelético y lingual, intestino delgado y grueso, que fueron fijadas por inmersión en formalina tamponada al 10%. Estas muestras fueron destinadas a estudios histológicos para lo cual fueron deshidratadas a través de alcoholes graduados a xileno, luego fueron embebidas en parafina, siguiendo la rutina de trabajo del laboratorio de Patología Veterinaria de la EEA INTA Balcarce (Campero *et al.*, 2003). Se obtuvieron secciones de tejidos de 4-5 µm mediante micrótomo, siendo montadas en portaobjetos y teñidas con hematoxilina y eosina, para su posterior examen histológico bajo microscopio óptico (NIKON Microflex HFM, Japón) por un mismo patólogo veterinario especializado.

A su vez, en un feto del que se aisló *L. ivanovii*, se realizó inmunohistoquímica (IHQ) a partir de tejidos formolados, utilizando un anticuerpo primario anti-*L. monocytogenes* (antisuero de *Listeria* O poli tipos 1 y 4, Difco, Detroit, MI, EEUU). El anticuerpo fue diluido 1/1500 en PBS y siguiendo el procedimiento indicado por Domingo *et al.* (1986) y Campero *et al.* (2002), a fin de confirmar la presencia de antígenos del género bacteriano en concordancia con las lesiones histológicas observadas. Como control positivo para esta técnica se utilizó pulmón de un bovino naturalmente infectado con *L. monocytogenes* mientras que como control negativo se utilizó tejido hepático el cual fue negativo al cultivo de *Listeria* spp.

Tabla 2. Toma de muestras y análisis realizados para identificación de patógenos bacterianos y protozoarios, o anticuerpos contra protozoarios, en casos de abortos y muertes perinatales en ovinos.

Muestras	Bacterias					Protozoos
	Cultivo Bacterio- lógico	<i>Campylobacter fetus</i>	<i>Chlamydia</i> spp.	PCR <sup>3</sup>	IFD/PCR en tiempo real	<i>Toxoplasma gondii</i> , <i>Neospora caninum</i>
		IFD <sup>1</sup>	Tinción de ZNm <sup>2</sup> /IFD			IFI <sup>4</sup> /PCR
Placenta	X	X	X	X	X	
Pulmón	X	X	X	X	X	
LA <sup>5</sup>	X	X				
Hígado	X		X		X	
Bazo	X		X		X	
Riñón					X	
Encéfalo	X					X
LC <sup>6</sup>						X

<sup>1</sup> IFD: inmunofluorescencia directa, <sup>2</sup> ZNm: Ziehl Neelsen modificada, <sup>3</sup> PCR: reacción en cadena de la polimerasa, <sup>4</sup> IFI: inmunofluorescencia indirecta, <sup>5</sup> LA: líquido de abomaso, <sup>6</sup> LC: líquido de cavidad peritoneal, torácica o pericárdica.

#### 4.3.2. Bacteriología.

##### 4.3.2.1. Cultivo bacteriológico.

Muestras de órganos detallados en la Tabla 2 fueron colectados asépticamente y colocados en bolsas estériles (Nasco, EEUU), a las cuales se les adicionó 10 mL de PBS (pH 7) estéril. Posteriormente los tejidos fueron macerados y una alícuota fue sembrada, al igual que el líquido abomasal, en placas con agar McConkey (MC, aerobiosis), agar sangre Columbia con 7% de sangre bovina (ASC, en atmósfera con

10% de CO<sub>2</sub>), y agar Skirrow con 7% de sangre equina desfibrinada (ASK, en atmósfera creada con tubos de gases con 5% de O<sub>2</sub>, 5-10% de CO<sub>2</sub> y 85-90% de H<sub>2</sub>), incubándose durante 1, 2 y 7 días respectivamente, en estufa a 37°C. Adicionalmente, para el cultivo de *Salmonella* spp. se realizó un pre-enriquecimiento de un 1 mL de cada macerado de órgano (hígado, pulmón y bazo) en medio tetrionato, el cual fue incubado en estufa a 37°C en aerobiosis. Los días 1, 3 y 5 se realizó un repique de este medio de pre-enriquecimiento al medio xilosa lisina desoxicolato (XLD) a fin de identificar colonias productoras de ácido sulfhídrico y luego continuar con la caracterización bioquímica. Todas las colonias que desarrollaron en los diversos medios fueron caracterizadas mediante la tinción de Gram, morfología microscópica, producción de hemólisis ( $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ ) en ASC y pruebas bioquímicas básicas tales como movilidad, oxido-fermentación, pruebas de actividad catalasa, oxidasa, ureasa y cultivo en medio Kligler. Luego se realizaron otras pruebas de identificación complementarias de acuerdo con los resultados previamente obtenidos en las pruebas bioquímicas básicas (Holt *et al.*, 1994).

En el caso de *L. ivanovii*, las colonias aisladas en ASC fueron caracterizadas mediante la tinción de Gram, morfología microscópica, producción de  $\beta$  hemólisis en ASC y pruebas bioquímicas básicas previamente indicadas. A su vez, se realizaron pruebas de identificación complementarias tales como indol, nitrato, beta-glucosidasa, hidrólisis de esculina, prueba de rojo de metilo-Voges-Proskauer, fermentación de carbohidratos y prueba de Christie–Atkins–Munch-Peterson (CAMP) (Holt *et al.*, 1994). Una vez confirmado el aislamiento de *L. ivanovii* se analizaron muestras de silo de maíz, alimento que estaban recibiendo las ovejas al momento de presentarse las pérdidas. Para el cultivo se utilizaron 25 g de silo de maíz los cuales fueron sembrados en 225 mL de caldo de enriquecimiento University Of Vermont Medium (UVM) el cual contiene acriflavina y ácido nalidíxico, la incubación se realizó durante 24 h en estufa a 30°C en aerobiosis. Luego de este tiempo se realizó un enriquecimiento secundario en caldo Fraser, para esto se transfirió 0,1 mL del caldo de enriquecimiento UVM a 10 mL de caldo Fraser siendo incubado por 24-48 h en estufa a 37°C en aerobiosis. Transcurrido el período de incubación se realizó un repique del caldo Fraser a los medios sólidos Agar Oxford y ASC, incubando por 24-48 h en estufa de 37°C en aerobiosis. Las colonias desarrolladas fueron caracterizadas mediante tinción de Gram y pruebas bioquímicas previamente descriptas.

Excepcionalmente, en uno de los fetos abortados, cuando se observaron lesiones macroscópicas compatibles con *Fusobacterium necrophorum* se realizó la siembra en

caldo Tarozzi y se incubó a 37°C en anaerobiosis. Luego de 48 h de incubación se realizaron repiques a 2 placas de ASC. Una de las placas se incubó en anaerobiosis y la segunda en aerobiosis, ambas a 37°C en estufa durante 48 h. Pasado el tiempo de incubación las colonias de ambas placas fueron observadas y se realizó la tinción de Gram para evaluar características morfológicas, de tinción y aerotolerancia. Este proceso fue repetido cada 48 h durante 7 días.

Para el cultivo de especies de *Campylobacter* termotolerantes, los macerados de órganos y el líquido abomasal fueron sembrados además en agar desoxicolato-cefoperazona-carbón vegetal modificado (mCCDA) incubándose durante 7 días en estufa a 42°C en microaerobiosis (atmósfera creada con tubos de gases, 5% de O<sub>2</sub>, 5-10% de CO<sub>2</sub> y 85-90% de H<sub>2</sub>). Las colonias fueron caracterizadas mediante la tinción de Gram, morfología y movimiento observado mediante microscopio de contraste de fases, IFD, repiques en aerobiosis, complementando luego con pruebas bioquímicas como oxidasa, hidrólisis de hipurato e hidrólisis de acetato de indoxilo.

#### 4.3.2.2. Inmunofluorescencia directa.

##### 4.3.2.2.1. *Leptospira* spp.

En portaobjetos con pocillos marcados con teflón se realizaron improntas de bazo, pulmón, hígado, riñón y/o placenta (cuando estuvo disponible), tanto de fetos como de corderos, dejando secar a temperatura ambiente y fijándolos posteriormente por inmersión en acetona por 10 min. A cada pocillo del portaobjetos se le adicionaron 30 µL de un anticuerpo multivalente anti-*Leptospira* spp. ("LEP-FAC, National Veterinary Services Laboratories, USDA", EEUU) conjugado con isotiocianato de fluoresceína (FITC). Las muestras se incubaron durante 1 h a 37°C en una cámara húmeda en la oscuridad. A continuación, el exceso de reactivo fue eliminado mediante lavado con PBS (pH 7,2) durante 5 min., dejando secar posteriormente a temperatura ambiente. A cada pocillo se le agregó glicerina al 75% estéril y se colocó un cubreobjetos. La observación se realizó con microscopio óptico (NIKON Microflex HFM, Japón) con un sistema epifluorescencia con objetivos de 40× y 100×. Como criterio de positividad se tomó la observación simultánea de la morfología espiralada compatible con *Leptospira* spp. y la fluorescencia. Para el control positivo se utilizaron cepas de *Leptospira* spp. cultivadas en medio EMJH por 4-8 días, las cuales fueron formoladas y posteriormente conservadas en heladera.

##### 4.3.2.2.2. *Campylobacter fetus*.

Para la detección de *C. fetus* se procedió a realizar un pre-enriquecimiento en agar Brucella semisólido con el agregado de antibióticos (15 UI/mL de bacitracina, 5 mg/mL de novobiocina, 50 µg/mL de cicloheximida y 1 UI/mL de polimixina B) a partir de las muestras de placenta y pulmón tanto de fetos como de corderos. Se incubó en microaerobiosis (atmósfera con 5% de O<sub>2</sub>, 5-10% de CO<sub>2</sub> y 85-90% de H<sub>2</sub>), durante 48 h en estufa a 37°C. Luego se tomó parte del anillo de crecimiento superficial, colocándolo en formol tamponado al 1%. En el caso del líquido de abomaso se tomó una alícuota, colocándola directamente en formol tamponado al 1%. Ambas muestras, se colocaron en portaobjetos con pocillos marcados con teflón. Se dejó secar a temperatura ambiente, fijándolos posteriormente con acetona por 10 min. Para la detección por medio de IFD se utilizó un conjugado comercial (Laboratorio Biológico de Tandil, Argentina) a una dilución de 1/60 en agua destilada, según indicaciones del fabricante. A cada pocillo del portaobjetos se le adicionaron 25 µL del reactivo conjugado con FITC. Las muestras se incubaron durante 15 min. a 37°C en una cámara húmeda en la oscuridad. A continuación, el exceso de reactivo fue eliminado mediante un lavado con PBS (pH 7) durante 5 min., dejando secar posteriormente a temperatura ambiente. A cada pocillo se le agregó 10 µL de líquido de montaje y se colocó un cubreobjetos. La observación se realizó con microscopio óptico (NIKON Microflex HFM, Japón) con sistema de epifluorescencia con objetivos de 40× y 100×. Como criterio de positividad se tomó la observación simultánea de la morfología bacilar curva compatible con *Campylobacter* y la fluorescencia. Como control positivo se utilizó un cultivo de *C. fetus* y como control negativo uno de *Campylobacter sputorum* biovar. *bubulus*.

#### 4.3.2.2.3. *Chlamydia* spp.

Para la detección de *Chlamydia* spp. se realizaron improntas de tejidos recolectados de fetos y corderos (Tabla 2). Se empleó un kit para *Chlamydia* (Thermo Scientific™ IMAGEN™, Reino Unido), que contiene un anticuerpo monoclonal conjugado con FITC. Este anticuerpo es específico contra el antígeno lipopolisacárido clamidial presente en todas las especies conocidas de *Chlamydia*, permitiendo de esta forma detectar los cuerpos elementales y cuerpos de inclusión (Masala *et al.*, 2007). Según el fabricante, dicho kit posee un 92% de sensibilidad y un 97% de especificidad evaluado sobre hisopados conjuntivales.

Por cada feto/cordero se examinó pulmón, bazo, hígado y/o placenta cuando estuvo disponible. Se realizaron improntas sobre portaobjetos con pocillos marcados con

teflón. Se dejaron secar a temperatura ambiente, fijándolos posteriormente con acetona por 10 min. A cada pocillo del portaobjetos se le adicionaron 25  $\mu$ L del reactivo conjugado con FITC. Las muestras se incubaron durante 15 min. a 37°C en cámara húmeda en la oscuridad. A continuación, el exceso de reactivo fue eliminado mediante lavado con PBS (pH 7) durante 5 min., dejando secar posteriormente a temperatura ambiente. A cada pocillo se le agregó 10  $\mu$ L de líquido de montaje provisto por el fabricante y se colocó un cubreobjetos.

Las muestras fueron observadas en un microscopio óptico (NIKON Microflex HFM, Japón) con sistema de epifluorescencia con objetivos de 40 $\times$  y 100 $\times$ . Una muestra se consideraría positiva cuando se observaran más de 10 CE o cuerpos de inclusión con una fluorescencia de color verde manzana. Mientras que en las muestras negativas se observaron únicamente las células sin fluorescencia. El control positivo fue suministrado por el kit comercial.

#### 4.3.2.3. Tinción de Ziehl Neelsen modificada (Stamp).

Para la detección de bacterias con características morfológicas compatibles con *Chlamydia* spp. se realizaron frotis de tejidos (pulmón, placenta, hígado, bazo) en portaobjetos, que se dejaron secar a temperatura ambiente y se fijaron con calor a la llama. Para la tinción se colocó fucsina fenicada (20%) durante 15 min. Pasado dicho tiempo se lavó con agua. Inmediatamente, se decoloró con ácido acético (10%) durante 15 s, se repitió el lavado y posteriormente se colocó verde de malaquita (5%) como colorante de contraste durante 2 min. Finalmente, se lavó la preparación con agua y se dejó secar a temperatura ambiente. La observación se realizó con microscopio óptico (NIKON Microflex HFM, Japón) con objetivo de 100 $\times$ . Como criterio de positividad se tomó la presencia de cuerpos de inclusión intracitoplasmáticos color fucsia compatibles con *Chlamydia* spp.

#### 4.3.2.4. Técnicas de PCR para *Chlamydia* spp.

Para la extracción de ADN a partir de hisopados vaginales, tejidos de fetos, placentas y corderos se utilizó el kit comercial “High Pure PCR Template Preparation®” (Roche LS, Alemania), y se siguieron las instrucciones del fabricante. Posteriormente se realizó la medición tanto de la cantidad como de la calidad del ADN extraído, mediante espectrofotometría (Epoch Microplate Spectrophotometer, BioTeK, Winooski, VT, EEUU).

#### 4.3.2.4.1. PCR anidada.

Para la detección de ADN de *C. abortus* se utilizó el protocolo de PCR anidada descrito por Sachse y Hotzel (2003). En dicha PCR se buscó identificar y amplificar el gen *omp1* (LP y VD I – IV) utilizando los cebadores **191CHOMP** 5'-GCI YTI TGG GAR TGY GGI TGY GCI AC- 3' y **CHOMP371** 5'-TTA GAA ICK GAA TTG IGC RTT IAY GTG IGC IGC - 3' para la primera ronda de amplificación. Se adicionaron 0,4 µL de dNTPs (0,04 mM), 5 µL de tampón (5X) y 0,1 µL de enzima Gotaq polimerasa. Luego de una etapa de desnaturalización por 30 s a 95°C, el ADN fue sometido a 35 ciclos de desnaturalización por 30 s a 95°C, hibridación por 30 s a 50°C, elongación por 30 s a 72°C y una etapa de elongación final por 1 min. a 72°C. Los productos generados pasaron a la segunda ronda de amplificación y a su vez, fueron sembrados en un gel de agarosa al 1% preparado con una solución tampón tris-acetato-ácido etilendiaminotetraacético (TAE) al 1% y SYBER Safe™ (0,1%). El gel se colocó en una cuba de electroforesis conteniendo TAE al 1%. Luego las muestras se sometieron a electroforesis a 90 volts por 60 min. y finalmente se visualizaron bajo luz ultravioleta. Se empleó un marcador de peso molecular de 100 pb estándar para comparar los resultados obtenidos. En esta primera parte se generó un producto de amplificación específico de género *Chlamydia* de 590 pb.

Para la puesta a punto de la PCR anidada se trabajó con dos controles positivos. El primero correspondió a ADN de *C. abortus*. El segundo fue obtenido de un cultivo de *Chlamydia trachomatis* (LGV/L2/Bu434) en células LLCMK2 (epiteliales de riñón de mono). Para la obtención, se procedió a realizar el lisado del cultivo mecánicamente, agitando mediante un agitador vórtex y raspando con la punta de la pipeta el vidrio donde estaban las células infectadas. Luego se colocó en un tubo con tapa a rosca, hirviéndolo por 10 min. en baño María y tomando el sobrenadante. Finalmente, se realizaron diluciones seriadas con agua bidestilada estéril.

Como control negativo se utilizaron células LLCMK2 sin infección. Para la obtención y extracción del ADN, se realizó el lisado del cultivo mecánicamente cuyo procedimiento fue previamente descrito, a su vez, para realizar la extracción de ADN se usó el mismo kit antes mencionado. Todos los controles fueron cedidos por el laboratorio de Inmunología de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad de Buenos Aires.

La segunda ronda de amplificación se realizó a partir de 1 µL de la PCR I, en presencia de un cebador interno específico de género (**CHOMP336s** 5'-CCR CAA GMT TTT CTR GAY TTC AWY TTG TTR AT- 3') y otro específico de especie



(**218PSITT** 5'-GTA ATT TCI AGC CCA GCA CAA TTY GTG- 3'). Como la PCR anidada fue desarrollada por Sachse y Hotzel en el año 2003, cuando *C. abortus* aún estaba clasificada como *C. psittaci* serovar 1, el cebador utilizado en dicha PCR permite detectar tanto *C. abortus* como *C. psittaci*. Para realizar la mezcla se adicionaron 0,4 µL de dNTPs (0,04 mM), 5 µL de tampón (5X) y 0,1 µL de enzima Gotaq polimerasa. Luego de una etapa de desnaturalización por 30 s a 95°C, el ADN fue sometido a 20 ciclos de desnaturalización por 30 s a 95°C, hibridación por 30 s a 60°C, elongación por 30 s a 72°C y una etapa de elongación final por 1 min. a 72°C. El producto amplificado se sembró en un gel de agarosa al 1% preparado con una solución de TAE al 1% y "SYBER Safe™" (0,1%). El gel se colocó en una cuba de electroforesis conteniendo TAE al 1%. Luego las muestras se sometieron a electroforesis a 90 volts por 60 min. y finalmente se visualizaron bajo luz ultravioleta. Se empleó un marcador de peso molecular de 100 pb estándar para comparar los resultados obtenidos. De esta forma se generó un producto de 395 pb correspondiente a *C. abortus* y *C. psittaci*.

#### 4.3.2.4.2. PCR en tiempo real.

Todas las muestras sin diagnóstico etiológico y a pesar de haber sido negativas a la PCR anidada fueron corroboradas mediante la realización de una PCR en tiempo real (Ehrlich *et al.*, 2006). Esta PCR de cribado específica de *Chlamydiaceae* está dirigida al gen 23S del ARN ribosomal (dominio I). La PCR en tiempo real fue realizada por el laboratorio de Inmunología de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad de Buenos Aires. Para la realización de esta PCR en tiempo real se utilizaron los cebadores **CH23S-F** 5'-CTGAAACAGTAGCTTATAAGCGGT-3' y **CH23S-R** 5'-ACCTCGCCGTTTAACTTAACTCC-3' y la sonda **CH23S-p** (FAM-CTCATCATGCAAAGGCACGCCG-TAMRA). Para la preparación de la mezcla de reacción se utilizó una solución madre comercial ("TaqMan® Fast Universal PCR Master Mix, Applied Biosystems", Foster City, CA, EEUU). La amplificación se realizó con una desnaturalización inicial a 95°C por 10 min., seguida de 45 ciclos de desnaturalización por 15 s a 94°C, hibridación por 60 s a 60°C, elongación por 30 s a 72°C. Se consideraron positivas aquellas muestras que presentaron un ciclo umbral (Ct) ≤ 42. Como control interno se amplificó la beta actina de mamífero.

#### **4.3.3. Categorización causal de acuerdo con la interpretación integrada de los resultados de laboratorio y anamnesis en cada caso.**

Para clasificar en feto abortado o muerte perinatal de un cordero se siguieron los siguientes criterios:

Feto abortado: se definió como la expulsión de un feto no viable de hasta 140 días de gestación (Robles, 2013), presencia tanto de cojinete solear en las pezuñas y falta de insuflación pulmonar.

Muerte perinatal: se definió como la muerte de un cordero desde el momento del nacimiento hasta el día 3 de vida inclusive (información suministrada por los productores y también de forma subjetiva en base al estado de deshidratación del cordón umbilical), ausencia de cojinete solear en pezuñas y constatada insuflación pulmonar.

##### 4.3.3.1. Causas bacterianas y protozoarias.

Se incluyeron en estas categorías las causas de origen bacteriano y protozoario. Los abortos y/o muertes perinatales fueron considerados de origen bacteriano cuando se logró el aislamiento de la bacteria y/o determinó la presencia de su ADN o antígenos, se observaron lesiones macroscópicas y/o histológicas compatibles con las producidas por el agente detectado.

En cuanto al cultivo y aislamiento de bacterias consideradas posibles contaminantes (puntualmente *E. coli* y *Providencia* sp.) se tuvieron en cuenta cuando se logró el aislamiento a partir de dos órganos parenquimatosos, requiriendo a su vez, el desarrollo en pureza en medios de cultivo enriquecidos (ASC). En caso de desarrollo únicamente de una muestra (por ejemplo, líquido de abomaso), los aislamientos de estos agentes fueron desestimados.

En agentes protozoarios, para confirmar el diagnóstico, tanto la detección del ADN específico de *T. gondii* o *N. caninum* mediante PCR como la observación de lesiones histológicas compatibles con las causadas por estos agentes debieron estar presentes. En el caso de IFI se interpretó como un resultado complementario acompañante, sin embargo, en casos donde mediante IFI fueron detectados anticuerpos anti *N. caninum* o *T. gondii* sin detectarse lesiones o ADN de estos parásitos, su acción como agente causal de las pérdidas fue desestimado.

##### 4.3.3.2. Causas no infecciosas.

Se incluyeron en esta categoría a las causas de origen traumático, estrés-inanición-hipotermia y distocia.

En estos casos, no se aisló ni identificó ADN o antígenos de ninguno de los agentes bacterianos o protozoarios evaluados y mediante la anamnesis (incluyendo hallazgos clínicos) y patológicos pudo sospecharse la causalidad.

Estrés-inanición-hipotermia: en esta categoría fueron clasificados los ejemplares que presentaron insuflación pulmonar, ausencia de cojinete solear en pezuñas (es decir sólo se categorizaron aquí corderos muertos en la etapa perinatal, pero no fetos abortados), tejido adiposo perirrenal y pericárdico disminuido o completamente metabolizado, y ausencia de calostro o leche en el abomaso. No se produjo ningún aislamiento o identificación molecular de agentes bacterianos ni protozoarios. Las lesiones histológicas observadas principalmente fueron vacuolización citoplasmática de hepatocitos, congestión/hemorragia en glándula adrenal, y presencia de meconio en los alvéolos pulmonares. Lesiones histológicas leves en otros órganos fueron desestimadas. Se tuvieron en cuenta datos de temperatura y precipitaciones.

Trauma posparto: en esta categoría se incluyeron corderos muertos en la etapa perinatal (no abortos) que presentaban ruptura o eventración de órganos con hemorragia asociada, ausencia de edema en el tejido subcutáneo y reservas grasas intactas.

Distocia: edema en distintas partes del cuerpo, en presentación anterior edema en cabeza y cuello, en presentación posterior edema en zona glútea, nalga y piernas, atelectasia pulmonar y cojinete solear intacto. Presencia o no de sangre libre o coágulos sanguíneos en cavidades, meconio en el manto lanar, reservas grasas intactas. Lesiones histológicas: hemorragia y/o congestión en glándulas adrenales, presencia de meconio en alvéolos pulmonares.

#### 4.3.3.3. Causas indeterminadas.

Se incluyeron en esta categoría casos en los que no se arribó a un diagnóstico etiológico por las técnicas de laboratorio empleadas, incluso si se encontraron lesiones histológicas compatibles con o sugestivas de una causa infecciosa/protozoaria o no infecciosa. La categoría incluyó dos subcategorizaciones:

- Indeterminada con lesiones compatibles con un agente infeccioso o protozoario: se observó o no alguna lesión macroscópica, histológicamente se observaron lesiones en 1 o varios órganos con infiltrados inflamatorios moderados a

severos, sin embargo, no se logró el aislamiento o detección molecular de agentes bacterianos o protozoarios.

- Indeterminado sin lesiones compatibles con un agente infeccioso o protozoario: no se observan lesiones macroscópicas ni microscópicas relevantes, o se observaron lesiones no compatibles con las causadas por agentes infecciosos o protozoarios de conocido rol abortivo.

#### **4.3.4. Análisis estadístico.**

##### 4.3.4.1. Análisis serológico.

Para el cálculo del tamaño muestral para la determinación de la seroprevalencia de *C. abortus* y *Leptospira* spp. (n = 485 animales) se utilizó la fórmula abreviada  $[N = \log(1-0,95) / \log(1-0,04)]$ , la cual utiliza un 95% de confianza aceptando un error del 5% y considerando una prevalencia de al menos un 4% (Fiorentino *et al.*, 2003; Draghi, 2012).

Se determinó la seroprevalencia aparente de *C. abortus* y *Leptospira* spp. en los sueros de ovejas y borregas, y el intervalo de confianza del 95% (IC<sub>95%</sub>). Además, para determinar asociación entre el resultado obtenido en la serología y el tamaño de la majada, la raza y la categoría se utilizó el modelo lineal generalizado mixto considerando como efectos fijos al tamaño de la majada, raza y categoría y al establecimiento como efecto aleatorio. La distribución es binomial, la función de ligadura es la función logit y el método de estimación es el de máxima verosimilitud. Primero se realizó un análisis bivariado de los resultados y en caso de seleccionar más de una variable explicativa se realizó un análisis multivariado.

##### 4.3.4.2. Análisis de abortos y muertes perinatales.

Se procedió al análisis descriptivo de la distribución de los casos según la categorización propuesta para las causas, mediante variaciones de frecuencia, cuyos resultados fueron expresados en base a números totales y porcentajes de casos diagnosticados por período gestacional y provincia en que ocurrió el aborto o muerte perinatal.

Se utilizó la prueba de Chi cuadrado, a fin de evaluar posibles asociaciones entre el momento de muerte (aborto o muerte perinatal) y la causa (bacteriana/protozoaria o no infecciosa). Se realizó también un ANOVA cuya variable dependiente fue el peso y la variable de clasificación el sexo y período gestacional de fetos y corderos. Por otro lado, se realizó otro ANOVA para el que se tuvo en cuenta la edad (2°/3° período

gestacional), el peso y sexo de los fetos. Se utilizó como variable dependiente el peso y como clasificatoria la edad gestacional, particionando o no por sexo.

Todos los análisis estadísticos se realizaron utilizando el programa InfoStat Di Rienzo et al. (2017). Se utilizó un nivel de significancia  $p < 0,05$ .

## 5. RESULTADOS

### 5.1. Determinación de la seroprevalencia aparente.

#### 5.1.1. Seroprevalencia aparente de *Chlamydia abortus*.

De los 485 sueros analizados por ELISA 38 (7,8%) fueron positivos (Tabla 3), 428 (88,2%) fueron negativos y 19 (3,9%) resultaron sospechosos. Basados en los resultados positivos, la seroprevalencia aparente general para *C. abortus* fue del 7,8% (38/485, IC<sub>95%</sub> 6,04-9,6). En los 8 establecimientos analizados (100%) se encontraron animales seropositivos. Los 3 establecimientos con seroprevalencias aparentes más altas se encontraban ubicados en los partidos de San Miguel del Monte, Tandil y Cañuelas, siendo estas del 19,4%, 17,6% y 14,3% respectivamente (Fig. 1), todos con ovinos de la raza Frisona Milchscaf (Tabla 1). Al analizar la asociación entre la seropositividad y la raza Frisona Milchscaf (25/204, 12,3%) y Pampinta (13/281, 4,6%), se observaron diferencias significativas ( $p = 0,03$ ), estableciéndose asociación estadística entre la raza Frisona Milchscaf y la mayor probabilidad de presentar serología positiva para *C. abortus*, siendo controlado por el efecto del establecimiento. Sin embargo, basado en la complejidad de comprobar que una raza es genéticamente más resistente/susceptible a una enfermedad infecciosa, aunque es posible, se plantea la necesidad de realizar mayores estudios. Esta asociación podría no deberse a la raza sino a que otros factores (manejo, región, ambiente, endemia, etc) son los condicionantes de la presencia de la enfermedad y la raza actúa como factor confundente al observar que un gran número de positivos se encuentran en una región. Además, el hecho de no contar con animales de ambas razas en todos los establecimientos podría hacer que la asociación encontrada no se deba a una asociación causal sino a un sesgo o un efecto de confusión, ya que no se podría discriminar el efecto predio del efecto raza.

También se evaluó la asociación entre el tamaño de las majadas (Tabla 1) y la probabilidad de presentar seroreactores, no hallando diferencias significativas ( $p =$

0,06) entre animales de majadas chicas (31/266 animales, 11,7%, 5 majadas) y animales de majadas grandes (7/219 animales, 3,2%, 3 majadas).

Tabla 3. Valor S/P (%) individual obtenido de las 38 hembras positivas al ELISA para *Chlamydia abortus* en los 8 tambos ovinos de diferentes partidos de la provincia de Buenos Aires, según categoría.

Partido	Raza	Hembras analizadas	Hembras positivas	Valor S/P (%)
Cañuelas	Frisona Milchschaf	35	5 (2 ovejas, 3 borregas)	1) 49,84; 132,15; 2) 51,61; 44,59; 49,37;
Maipú	Frisona Milchschaf	73	2 (2 ovejas, 0 borregas)	1) 76,15; 48,91
San Miguel del Monte	Frisona Milchschaf	62	12 (12 ovejas, 0 borregas)	1) 81,46; 51,48; 138,17; 70,86; 96,71; 53,24; 204,15; 176,81; 51,11; 42,82; 73,77; 122,54
Tandil	Frisona Milchschaf	34	6 (6 ovejas, 0 borregas)	1) 59,9; 65,99; 66,38; 54,52; 44,93; 56,27
Balcarce	Pampinta	62	6 (6 ovejas, 0 borregas)	1) 45,8; 314,28; 41,54; 50,84; 46,96; 44,38
Bolívar	Pampinta	73	3 (2 ovejas, 1 borrega)	1) 40,98; 168,02 2) 42,07
Magdalena	Pampinta	73	2 (2 ovejas, 0 borregas)	1) 57,89; 40,58
Pehuajó	Pampinta	73	2 (1 oveja, 1 borrega)	1) 63,03 2) 46,6
Total	-	485	38 (33 ovejas, 5 borregas)	-

Valores correspondientes a ovejas 1 y borregas 2.

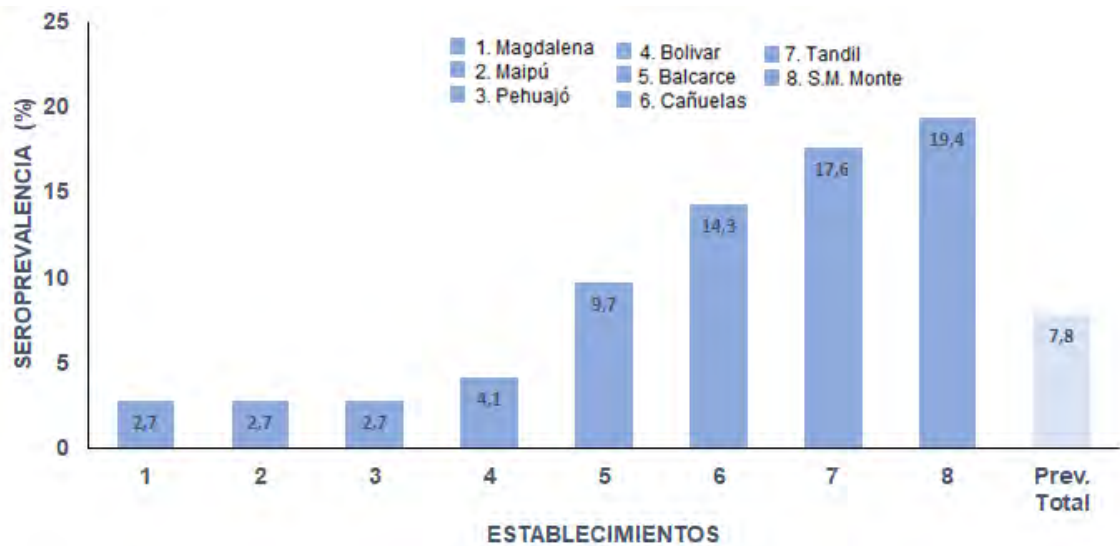


Figura 1. Seroprevalencia aparente (% de seropositividad) a *Chlamydia abortus* sobre 485 muestras de suero de hembras ovinas correspondientes a 8 tambos ubicados en diferentes partidos de la provincia de Buenos Aires, Argentina. Prev. Total: prevalencia aparente total.

Al analizar por categoría los seroreactores a *C. abortus*, se observó una prevalencia aparente de 9,6% (31/320) en las ovejas (IC<sub>95%</sub> 6,9-12,4) y de 5,4% (5/92) en las borregas (IC<sub>95%</sub> 1-9,8), sin embargo, estas diferencias no fueron estadísticamente significativas ( $p > 0,05$ ).

#### 5.1.2. Seroprevalencia de *Leptospira* spp.

Se analizaron los mismos 485 sueros ovinos antes mencionados, no se encontraron seroreactores para ninguno de los 8 serogrupos-serovares evaluados en la dilución 1/100. De acuerdo con la fórmula usada para el cálculo del tamaño de muestra, la negatividad en todas las muestras indica que la seroprevalencia de estos serogrupos-serovares de *Leptospira* spp. es  $< 4\%$ .

### 5.2. Determinación de la seroprevalencia aparente y seguimiento de animales seropositivos para evaluar excreción vaginal de *C. abortus* luego del parto.

En el primer muestreo realizado en marzo de 2019 en el establecimiento del partido de Balcarce (Tabla 1), 9,7% de los animales (6/62) resultaron seropositivos a *C. abortus* (Fig. 1, tambo 5). En el segundo muestreo, realizado en octubre del mismo año fueron incluidas únicamente las 6 ovejas que previamente habían resultado seropositivas. De estas ovejas, 4 habían parido con normalidad, mientras que las 2 restantes no presentaron cordero al pie al finalizar la temporada de partos. Una de

ellas había abortado, en la otra no se pudo establecer con certeza si quedó preñada luego del servicio (dado que no realizaban ecografías), y en caso de haber quedado preñada si la pérdida del feto/cordero ocurrió antes o después del parto. Al analizar los sueros del segundo muestreo mediante ELISA, se detectó sólo un animal positivo con S/P de 221,6% (Tabla 4), que era la oveja que había abortado. De las otras 5 ovejas, 4 se seronegativizaron y una resultó sospechosa al segundo muestreo. Cuando se evaluaron los hisopados vaginales, extraídos en concordancia con el segundo muestreo de suero, mediante la tinción de ZNm y la PCR anidada, resultaron todos negativos a *Chlamydia*. A pesar del seguimiento realizado, no fue posible obtener ningún feto/cordero para investigación diagnóstica de esta majada.

Tabla 4. Antecedentes reproductivos y resultados del ELISA para IgG anti-*Chlamydia abortus* en 6 ovejas de un tambo ubicado en Balcarce.

Nro. oveja	ELISA		Estado reproductivo al momento del 2° muestreo
	S/P (%) <sup>1</sup> al 1° muestreo <sup>2</sup>	S/P (%) <sup>1</sup> al 2° muestreo <sup>2</sup>	
1	314,2	221,6	Abortó
2	41,5	17,3	Parto, trillizos
3	50,8	14,1	No presentó cordero <sup>3</sup>
4	45,8	30,7	Parto simple
5	46,9	18,2	Parto simple
6	44,3	8,1	Parto, mellizos

<sup>1</sup> S/P < 30% = negativo, ≥ 30% y < 40% = sospechoso, ≥ 40% = positivo. <sup>2</sup> Primer muestreo realizado en marzo de 2019 y segundo muestreo realizado en octubre del mismo año. <sup>3</sup> Esto pudo deberse a tres factores: a- la oveja no quedó preñada luego del servicio, b- la oveja quedó preñada, pero padeció pérdida de la gestación (muerte embrionaria o aborto), o c- la oveja quedó preñada y acarrió la gestación, pero perdió el cordero durante o luego del parto.



### 5.3. Determinación de las causas de abortos y muertes perinatales.

#### 5.3.1. Análisis de fetos, placentas y corderos.

Se analizaron un total de 27 fetos abortados por 25 madres (2 pares de mellizos), 9 de los cuales a su vez tenían su placenta, los mismos provinieron de 11 establecimientos. Por otro lado, se analizaron 31 corderos  $\leq$  3 días de vida que murieron en la etapa perinatal, procedentes de 7 establecimientos, 3 de los cuales ya habían enviado al menos 1 feto. No se recibió ningún cordero  $>$  3 días de vida. Las muestras provinieron en total de 15 establecimientos ubicados en las provincias de Buenos Aires (8), Corrientes (5), Santa Fe (1) y Entre Ríos (1) (Tabla 5). El 80% (12) de estos establecimientos realizaba cría extensiva para la producción de carne y secundariamente lana, con majadas de entre 9 y 8000 animales, de las razas Ideal, Corriedale, Texel, Santa Inés, Hampshire Down y Highlander. La alimentación de las majadas ubicadas en las provincias de Buenos Aires, Corrientes y Entre Ríos era únicamente a campo natural. En la majada ubicada en la provincia de Santa Fe las hembras gestantes eran alimentadas a base de campo natural y suplementadas con silo de maíz. Una majada ubicada en Balcarce (Buenos Aires) aportó el mayor número de fetos abortados (13) y corderos muertos en la etapa perinatal (14), presentando pérdidas asociadas a 4 agentes bacterianos, 2 protozoarios y 3 causas no infecciosas distintas.

Por otra parte, el 20% (3) de los establecimientos realizaban una producción de tipo semi-intensiva a intensiva para la obtención de leche, se desconoce si comercializaban lana de manera secundaria. Estos establecimientos contaban con majadas de entre 37 y 45 animales, de las razas Frisona Milchschaaf y Pampinta, la alimentación era a base de campo natural suplementado con maíz (forma no especificada) y rollos (forraje no especificado). Estos establecimientos se encontraban ubicados en la provincia de Buenos Aires.

Tabla 5. Distribución de los abortos y muertes perinatales en ovinos según la provincia, tipo de producción, tamaño de la majada y categorización de causa de muerte. Los establecimientos (15) se encuentran numerados cuando fueron más de uno por localidad.

Provincia	Localidad. Establecimiento	Tipo de producción	Tamaño de la majada	Cantidad de abortos analizados	Cantidad de corderos con muerte perinatal analizados	Causa de muerte
Buenos Aires	Olavarría	Carne	60	-	4	1 P y 3 NI
	Cañuelas	1 Leche	37	3	1	2 P, 1 NI y 1 I
		2 Leche	42	1	-	1 I

	Balcarce	Carne	1114	13	14	9 B, 4 P, 8 NI y 6 I
	General Paz	Carne	256	1	-	1 B
	Azul	Leche	45	1	-	1 I
	Magdalena	Carne	224	1	2	2 B y 1 NI
	Ayacucho	Carne	161	-	2	2 B
Corrientes	1	Carne	8000	-	5	3 P y 2 NI
	<u>2</u>	Carne	120	1	-	1 I
	Mercedes	<u>3</u>	Carne	9	1	1 I
	<u>4</u>	Carne	100	3	-	3 I
	Curuzú Cuatiá	Carne	1000	-	3	3 P
Santa Fe	Avellaneda	Carne	90	1	-	1 B
Entre Ríos	Concordia	Carne	88	1	-	1 P
<hr/>						
Total				27	31	

B: bacterianas, P: protozoarias, NI: no infecciosa, I: indeterminado.

El grado de autólisis fetal fue 1 en 11,1% (3/27), 2 en 18,5% (5/27) y 3 en 29,6% (8/27) de los fetos. De estos últimos 5/8 presentaron momificación. En los restantes 11 fetos el grado de autólisis no fue registrado. En los corderos con muerte perinatal el grado de autólisis 1 estuvo representado por el 48,3% (15/31), el grado 2 por el 32,3% (10/31) y el grado 3 por el 19,3% (6/31) de los especímenes.

Según los criterios establecidos el 50% (29/58) del total de pérdidas (abortos y muertes perinatales en conjunto) fueron categorizados como causadas por agentes bacterianos/protozoarios, un 25,8% (15/58) correspondieron a causas no bacterianas / no protozoarias, mientras que en el 24,1% (14/58) restante no se pudo establecer la causa de muerte (casos de causa indeterminada). De los 14 casos de causa indeterminada, 9 presentaron lesiones histológicas compatibles con una posible causa infecciosa/protozoaria (representando 15,5% del total de casos, 9/58), 3 de estos casos no presentaron lesiones macroscópicas ni microscópicas (representando 5,1% del total de casos, 3/58), mientras que los 2 casos restantes (representando 3,4% del total de casos, 2/58) presentaron lesiones macroscópicas y/o microscópicas, sin embargo, no fue posible asociar la muerte a una causa específica.

En cuanto a los resultados de causalidad de *T. gondii* y *N. caninum*, tanto para los abortos como para las muertes perinatales, se expresan en forma agrupada como pérdidas (abortos o muertes perinatales) causadas por protozoarios, ya que los autores de la tesis no cuentan con los derechos/permisos de publicación de estos resultados en forma discriminada, debido a que dicha información pertenece a otro equipo de trabajo.

Con la información recolectada de los fetos y corderos recibidos, se procedió a evaluar la distribución de las pérdidas producidas durante la gestación y en los primeros 3 días de vida teniendo en cuenta la causa, para lo cual se hizo una categorización en dos grandes grupos. Uno agrupando aquellos casos con causa bacteriana, protozoaria o indeterminada con lesiones compatibles con un agente infeccioso/protozoario, y otro agrupando aquellos casos con causa no infecciosa o indeterminada sin lesiones compatibles con un agente infeccioso o protozoarios de conocido rol abortivo (Fig. 2).

De los 27 fetos analizados, 7 (25,9%) correspondieron al segundo período de gestación y 20 (74,1%) al tercero, no se recibieron fetos del primer período de gestación. Las causas más frecuentes de aborto fueron agentes protozoarios, bacterianos o agentes no identificados que indujeron lesiones compatibles con las causadas por agentes infecciosos/protozoarios en los fetos/placentas (22/27, 81,5%). De los 31 corderos muertos en la etapa perinatal analizados, 11 (35,5%) tenían 1 día, 10 (32,25%) 2 días y 10 (32,25%) 3 días de vida. Las causas de muertes perinatales más frecuentes fueron no infecciosas (14/31, 45,2%) (Fig. 2). Los fetos abortados tuvieron más probabilidades de ser diagnosticados con una causa bacteriana, protozoaria, o indeterminada con lesiones compatibles con un agente infeccioso/protozoario que los corderos que murieron en la etapa perinatal (OR = 3,62; IC<sub>95%</sub> 1,1-11,6; p = 0,03).

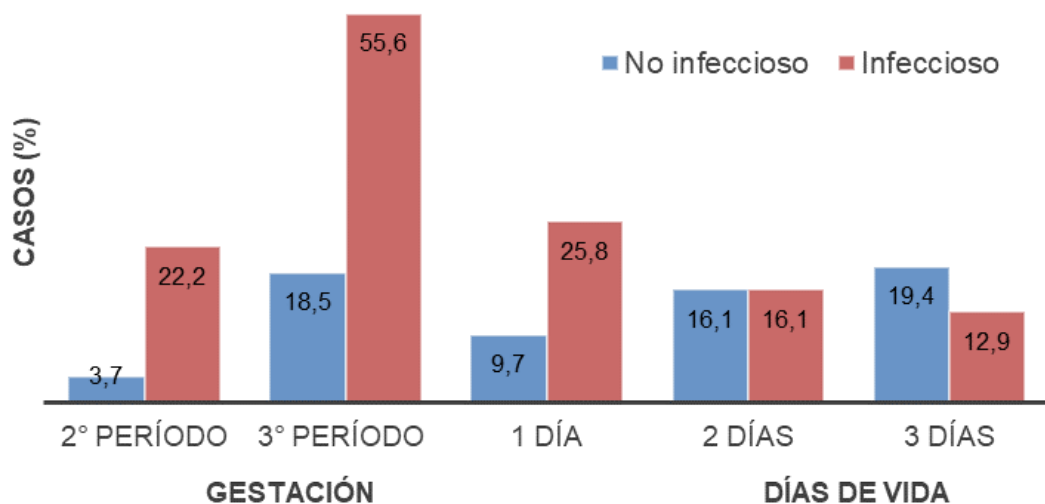


Figura 2. Proporción (%) de causas bacterianas/protozoarias/indeterminadas con lesiones compatibles con un agente infeccioso/protozoario y no infecciosas/indeterminadas sin lesiones compatibles con un agente infeccioso en las pérdidas producidas durante la gestación y en los 3 primeros días de vida (no se recibieron corderos de más de 3 días de vida). Los porcentajes obtenidos en fetos y corderos son en base a su total (27 fetos y 31 corderos).

También se evaluó la distribución de las pérdidas producidas de acuerdo con el agente causal del aborto o de la muerte perinatal (Fig. 3). En el caso de los abortos, 12/27 (44,4%) fueron por causa indeterminada, aunque 8 de estos 12 tuvieron lesiones compatibles con las causadas por agentes infecciosos/protozoarios que no pudieron ser identificados por los cultivos bacteriológicos o por las técnicas inmunodiagnósticas o moleculares empleadas. A su vez, en los 16 casos con causas determinadas (59,3%), 8 fueron causados por protozoos, 5 por agentes bacterianos (*Leptospira* spp., *L. ivanovii* y *C. jejuni*) y 2 por distocias. Por su parte, 11 muertes perinatales fueron consideradas producto del síndrome estrés-inanición-hipotermia, 10 se debieron a agentes bacterianos [*E. coli* (5/31), *Providencia* sp. (1/31), *Leptospira* spp. (1/31), *M. haemolytica* (1/31), *T. pyogenes* (1/31), y coinfección por *M. haemolytica* y *T. pyogenes* (1/31)], 6 a protozoos y 2 corderos murieron a causa de traumas.

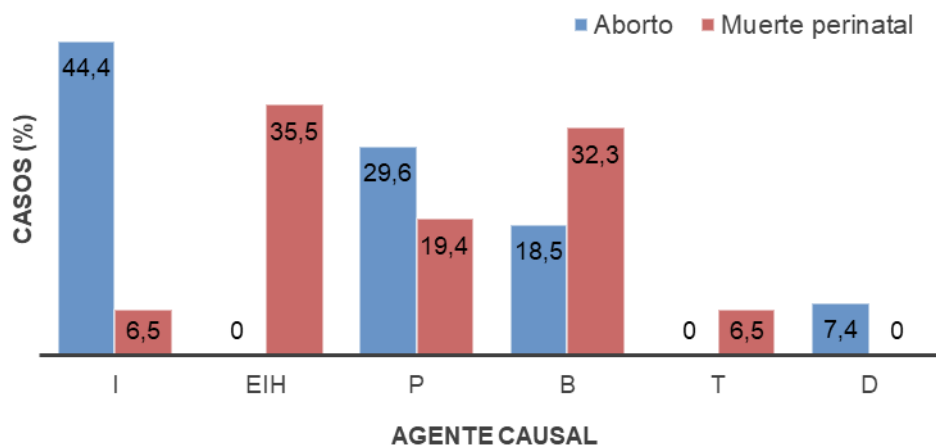


Figura 3. Proporción (%) de las pérdidas de acuerdo con el agente causal del aborto o de la muerte perinatal. I: indeterminado, EIH: estrés-inanición-hipotermia, P: protozoo, B: bacteria, T: Trauma, D: distocia. Los porcentajes de fetos y corderos están expresados en base a su respectivo total (27 fetos y 31 corderos).

En 22 de los 27 fetos se registró el peso corporal y el sexo, siendo 8 machos y 14 hembras. En los 5 casos faltantes la carcasa del feto no fue enviada al laboratorio, no

pudiendo acceder a datos biométricos. Estas variables fueron registradas en los 31 corderos con muerte perinatal, siendo 25 machos y 6 hembras. Los pesos corporales y sexos de estos 53 especímenes se presentan en la Tabla 6. Entre los animales analizados, la proporción de abortos de fetos hembras fue significativamente mayor que la de machos, mientras que la proporción de corderos machos con muerte perinatal fue significativamente mayor que la de hembras ( $p = 0,001$ ). Sin embargo, a fin de explicar estas diferencias y teniendo en cuenta que el peso promedio de los machos fue superior al de las hembras, se realizó un ANOVA tanto para fetos como para corderos de manera individual. Para el análisis se utilizó como variable dependiente al peso y como clasificatoria al sexo, no encontrando diferencias significativas ( $p > 0,05$ ).

Por otro lado, se realizó otro ANOVA para el que se tuvo en cuenta la edad (2°/3° período gestacional), el peso y sexo de los fetos. Se utilizó como variable dependiente el peso y como clasificatoria la edad gestacional, particionando o no por sexo. Cuando se evaluaron los 22 fetos sin particionar por sexo (es decir agrupando machos y hembras juntos), se encontraron diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) en los pesos de los fetos del 2° y 3° periodo de gestación (Fig. 4). Cuando se consideró el sexo, en el caso de los 14 fetos hembra también se observaron diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) en los pesos entre el 2° y 3° período de gestación. Sin embargo, en el caso de los 8 fetos machos las diferencias de peso halladas entre el 2° y 3° periodo no fueron significativas ( $p > 0,05$ ) (Fig. 4), aunque hay que considerar que sólo había 1 feto macho del 2° periodo gestacional. A pesar de esto, los pesos de los fetos macho siempre fueron mayores que los de los fetos hembra. Las diferencias encontradas al analizar los pesos fetales de 2° y 3° período gestacional (tanto para machos y hembras en conjunto, como para hembras solamente) son esperables, ya que en este último se adquieren las mayores ganancias de peso fetales.

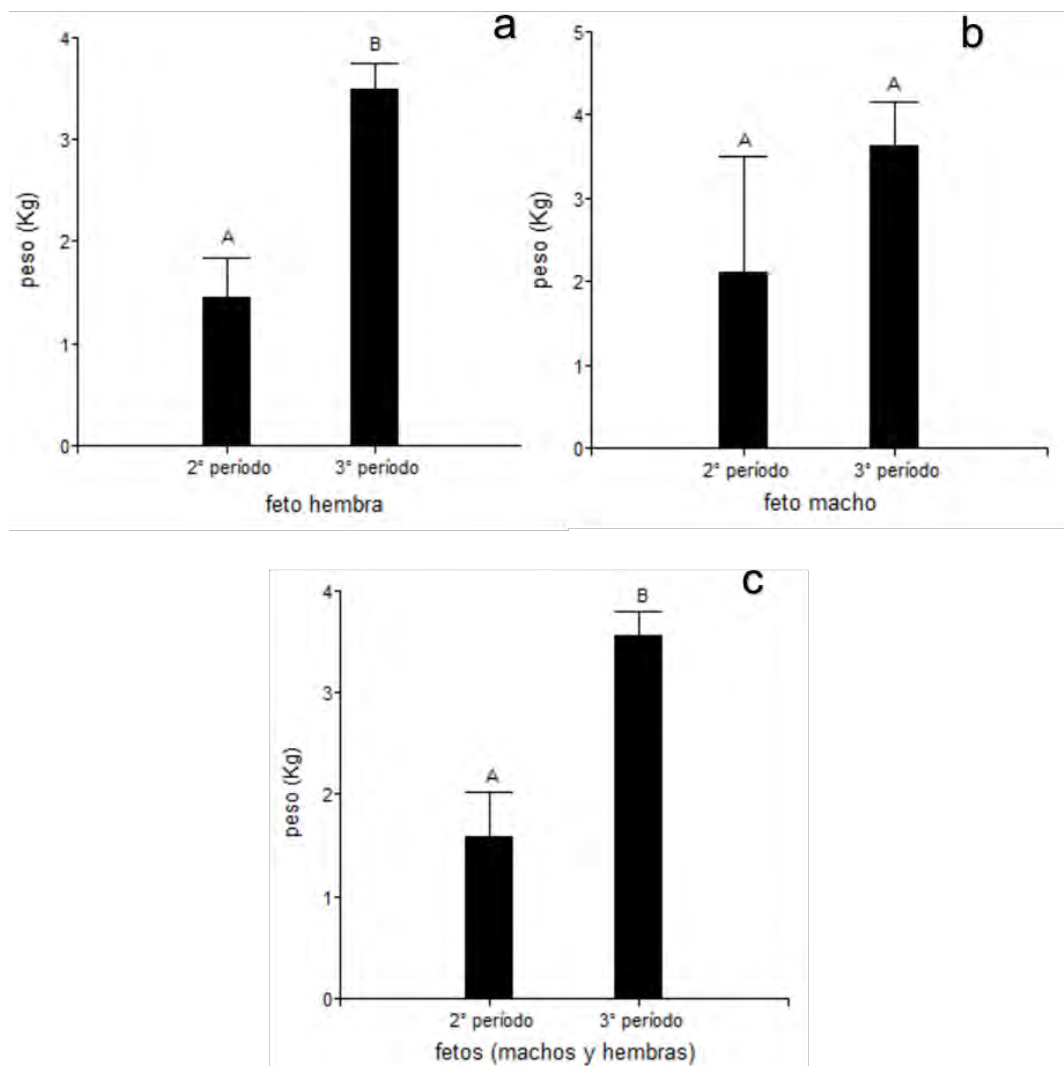


Figura 4. **a.** Pesos promedio de 14 fetos hembra según período gestacional, letras distintas indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ). **b.** Pesos de 8 fetos machos según período gestacional, letras iguales indican inexistencia de diferencias significativas ( $p > 0,05$ ). La barra del 2° periodo representa un solo feto, mientras que la de 3° periodo representa el promedio de los otros 7 fetos. **c.** Pesos promedios de fetos (14 hembras y 8 machos) según período gestacional, letras distintas indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ).

Tabla 6. Sexo y pesos corporales de los fetos según período gestacional y de los corderos.

---

Peso (kg)

---

Nro.	Fetos (aborto)				Corderos (muerte perinatal)	
	Macho		Hembra		Macho	Hembra
	2° período <sup>1</sup>	3° período <sup>1</sup>	2° período <sup>1</sup>	3° período <sup>1</sup>		
1	2,1	2,5	1	3	2,6	3
2		4	1	3,1	2,7	3,5
3		5,6	2	4	2,8	3,5
4		5,3	1,8	3,7	2,9	2,9
5		3,5		3,5	3	3,9
6		2,4		3	5	2,8
7		2,1		2,5	4,8	
8				3,7	3,5	
9				5,5	3,9	
10				3	3	
11					2,8	
12					4	
13					3,6	
14					2,5	
15					3	
16					5,6	
17					3,7	
18					4,1	
19					3	
20					4	
21					3	
22					4,6	
23					2,7	
24					1,5	
25					4	

<sup>1</sup> 2° período: 61-110 días de gestación, 3° período: 111-140 días de gestación.

### 5.3.2. Causas bacterianas/protozoarias.

Las pérdidas que se consideraron causadas por agentes bacterianos o protozoarios incluyeron la detección de dichos agentes, ya sea por cultivos bacteriológicos, técnicas inmunodiagnósticas o moleculares empleadas, sumado a la presencia de lesiones en el examen patológico. Colectivamente evaluando fetos y corderos, en un 26% (15/58) de los casos se identificaron causas bacterianas y en un 24% (14/58) protozoarios (Tabla 6). De todas estas pérdidas consideradas de origen

bacteriano o protozoario, 13 fueron abortos y 16 muertes perinatales. Cuando se analizan los abortos, las causas más frecuentemente diagnosticadas fueron protozoarios (8/13 casos), seguidos de bacterias (5/13 casos), mientras que para las muertes perinatales se diagnosticaron 10/16 casos de causa bacteriana y 6/16 de causa protozoaria (Tabla 7).

Tabla 7. Resumen de las causas de aborto y muerte perinatal en ovinos.

	Aborto	Muerte Perinatal	% Grupal	Total
<b>Causas bacterianas o protozoarias</b>				<b>29</b>
<b>Bacterias</b>				<b>15</b>
<i>E. coli</i>		5	17,2%	
<i>Providencia</i> sp.		1	3,4%	
<i>Leptospira</i> spp.	3	1	13,8%	
<i>T. pyogenes</i>		1	3,4%	
<i>M. haemolytica</i>		1	3,4%	
<i>T. pyogenes</i> + <i>M. haemolytica</i>		1	3,4%	
<i>L. ivanovii</i>	1		3,4%	
<i>C. jejuni</i>	1		3,4%	
<b>Protozoarios</b>				<b>14</b>
Protozoos apicomplejos	8	6	48%	
<b>Causa no infecciosa</b>				<b>15</b>
Estrés inanición hipotermia		11	73,3%	
Trauma		2	13,3%	
Distocia	2		13,3%	
<b>Indeterminado</b>				<b>14</b>
Con lesiones compatibles con agentes infecciosos/protozoarios	8	1	64,2%	
Sin lesiones compatibles con agentes infecciosos/protozoarios	4	1	35,7%	

#### 5.3.2.1. Bacterias.

En cuanto a los 5 abortos y 10 muertes perinatales de origen bacteriano, fueron varias las causas registradas, identificándose: *E. coli*, *Leptospira* spp., *T. pyogenes*, *M.*



*haemolytica*, *L. ivanovii*, *C. jejuni* y *Providencia* sp. Todos los fetos/placentas y corderos analizados resultaron negativos para *C. abortus*, mediante los diversos análisis realizados.

#### 5.3.2.1.1. *Escherichia coli* y *Providencia* sp.

*Escherichia coli* fue la bacteria aislada con mayor frecuencia (n = 5), el diagnóstico se basó en su aislamiento acompañado de lesiones. Los 5 aislamientos se realizaron en corderos de 1-3 días de vida procedentes de 2 establecimientos ubicados en la provincia de Buenos Aires y dedicados a la producción de carne. No se registraron abortos por esta causa. El grado de autólisis 2 fue observado en 4/5 corderos, mientras que en el restante el grado de autólisis fue 3. Si bien se recibieron 2 y 3 corderos por establecimiento, en las majadas afectadas se había registrado un mayor número de muertes perinatales. A la necropsia, en 3 de los 5 corderos se observó la boca húmeda con depósito de tierra, que se extendían hacia el manto lanar/piloso del maxilar inferior, sugestivo de hipersalivación premortem. En los 2 corderos restantes se observaron restos de materia fecal manchando la zona perianal y la base de la cola, lo cual es sugestivo de diarrea. Los 5 corderos presentaron reservas grasas perirrenal y pericárdica ausentes (Fig. 5), ausencia de contenido alimenticio en la luz abomasal (indicando que no habían ingerido calostro/leche en las horas previas a la muerte) y consolidación y coloración rojiza en lobulillos de los lóbulos pulmonares apicales, craneal y caudal. *Escherichia coli* fue aislada de los pulmones e hígados de los 5 corderos. Los aislamientos desarrollaron en pureza abarcando las 5 estrías en las placas de cultivo bacteriológico. A su vez, en 3/5 corderos se detectaron anticuerpos contra agentes protozoarios, sin embargo, su ADN no fue detectado. Mediante el análisis histopatológico se encontraron lesiones en múltiples tejidos, a saber: leve a moderada epicarditis, miocarditis y endocarditis no supurativa multifocal, neumonía intersticial pleocelular mixta leve a moderada, nefritis intersticial multifocal no supurativa leve a moderada y hepatitis periportal no supurativa leve común en todos los corderos. En 4/5 corderos se presentó meningitis y perivascularitis pleocelular mixta leve, así como miositis pleocelular mixta intersticial moderada multifocal. Además, en 2/5 corderos se observó glositis no supurativa intersticial moderada multifocal, esteatosis hepática moderada a severa, tinitis intersticial no supurativa leve a moderada, adrenalitis hemorrágica multifocal y enteritis necrotizante con infiltrado inflamatorio mixto moderado. Este último hallazgo fue observado en 2 de los corderos que a la necropsia habían presentado materia fecal de aspecto diarreico adherida a la

zonal perianal y la base de la cola. Sin embargo, no se observaron colonias bacterianas sobre los enterocitos. Si bien hallamos lesiones que sugieren infección bacteriana no se descarta la acción de agentes protozoarios como agentes secundarios no identificados.



Figura 5. **a.** Cordero (1/5) de 1 día de vida con restos de meconio / materia fecal adherida a zona perianal y base de la cola. **b.** Cordero 2/5 de 2 días de vida con boca húmeda y tierra en el manto piloso/lanar del maxilar inferior. **c.** Cordero (2/5) de 2 días de vida sin reservas de grasa perirrenal y pericárdica. En el pulmón se aprecian impresiones costales en la pleura parietal y áreas de enrojecimiento.

Otra de las enterobacterias a las que se le atribuyó causalidad a una muerte perinatal (y a ningún aborto) fue *Providencia* sp., la cual posiblemente se encontró en coinfección congénita con algún agente protozoario siendo este ultimo no confirmado. *Providencia* sp. se aisló en pureza abarcando las 5 estrías del medio de cultivo a partir de tejido pulmonar y hepático, mientras que el agente protozoario fue detectado por IFI, no así por la técnica de PCR. El cordero afectado tenía 1 día de vida, grado de autólisis 2, y pertenecía a un sistema de producción de carne ubicado en la provincia de Buenos Aires. Durante la necropsia se observó ausencia de tejido adiposo perirrenal y pericárdico (Fig. 6) y ausencia de contenido abomasal. En el parénquima pulmonar se observó consolidación de coloración rojiza y de distribución multifocal a coalescente. En el análisis histológico se observó meningo-encefalitis focalizada necrotizante no supurativa, endocarditis/miocarditis no supurativa multifocal leve, miositis multifocal no supurativa leve, hemorragia adrenal severa, nefritis intersticial no supurativa leve, neumonía intersticial no supurativa moderada y enteritis necrotizante con infiltrado inflamatorio mixto de leve a moderada. En base a las lesiones histológicas observadas no se descarta la acción de agentes protozoarios como agentes secundarios no identificados.

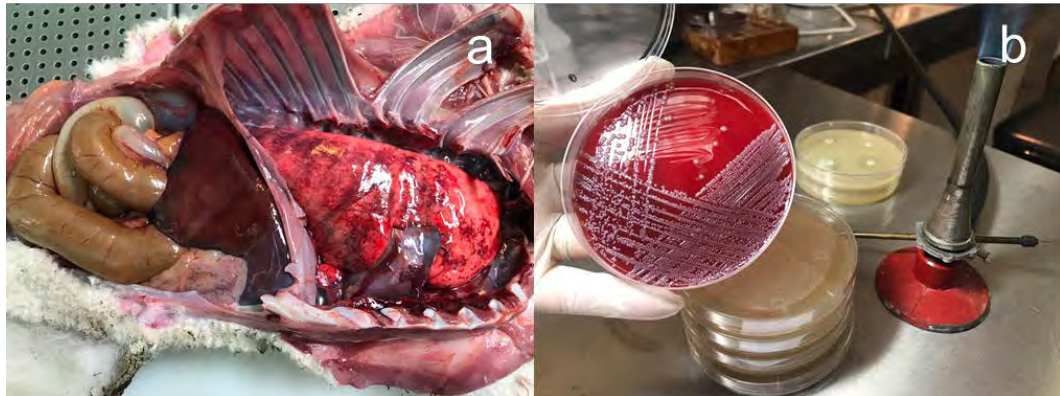


Figura 6. **a.** Cordero de 1 día de vida: consolidación y enrojecimiento del parénquima pulmonar de distribución multifocal a coalescente en todos los lóbulos pulmonares y ausencia de tejido adiposo perirrenal y pericárdico. **b.** Placa de agar sangre columbia con 7% de sangre bovina y desarrollo de colonias de *Providencia* sp. a partir de tejido pulmonar del mismo cordero.

#### 5.3.2.1.2. *Leptospira* spp.

*Leptospira* spp. fue diagnosticada mediante PCR en tiempo real e histopatología en 4 casos (3 fetos y 1 cordero), en 2/4 (1 feto y 1 cordero) el agente se identificó además mediante IFD. Los casos pertenecían a 3 establecimientos dedicados a la producción de carne ubicados en la provincia de Buenos Aires. Durante el año 2018 se recibieron 2 de los fetos correspondientes a 2 establecimientos y al año siguiente 1 de estos establecimientos volvió a enviar 1 feto confirmándose nuevamente el diagnóstico. El cordero provenía de un tercer establecimiento. La edad gestacional de los fetos fue de 60 días en 1/3, mientras que en los otros 2 fue de 140 días, en tanto que el cordero tenía 1 día de vida.

A la necropsia en 2/4 especímenes (1 feto y 1 cordero) no se observaron lesiones macroscópicas de importancia diagnóstica. En los 2 fetos restantes se observó un estado moderado de momificación (Fig. 7), detectándose en 1 de los fetos al agente por IFD. Ningún ejemplar presentó al momento de la necropsia ictericia ni hemoglobinuria. A su vez, en 1/3 fetos y en el cordero se detectaron anticuerpos contra agentes protozoarios, sin embargo, su ADN no fue detectado en ningún caso.

Mediante histología se encontraron lesiones en múltiples tejidos siendo la neumonía intersticial no supurativa leve a moderada, hepatitis periportal no supurativa leve a moderada, nefritis intersticial multifocal no supurativa leve a moderada y meningoencefalitis no supurativa leve a moderada compartida por los cuatro casos diagnosticados como pérdidas asociadas a *Leptospira* spp. Lesiones tales como

epicarditis no supurativa leve a moderada y glositis no supurativa intersticial moderada, fueron observadas en 1/3 fetos y en el cordero. Por otro lado, un cordero sin lesiones histológicas fue positivo a *Leptospira* spp. por IFD, sin embargo, dicho hallazgo fue desestimado al no hallar otros indicios o resultados positivos a otras pruebas diagnósticas. Al no hallar lesiones histológicas, no se realizó la PCR en tiempo real.



Figura 7. Feto de 60 días de gestación estimada, con moderado estado de momificación. El diagnóstico de leptospirosis fue alcanzado mediante inmunofluorescencia directa, PCR tiempo real e histopatología.

#### 5.3.2.1.3. *Trueperella pyogenes* y/o *Mannheimia haemolytica*.

*Trueperella pyogenes* y/o *M. haemolytica* fueron diagnosticadas mediante cultivo bacteriológico y la apreciación de lesiones histológicas en 3 corderos de 2-3 días de vida pertenecientes a 2 establecimientos dedicados a la producción de carne, de la provincia de Buenos Aires.

En las 3 necropsias se corroboró atrofia del tejido adiposo perirrenal y pericárdico, se observó consolidación de los lóbulos apicales pulmonares, los cuales presentaban consistencia firme y coloración rojiza, mientras que en 2/3 corderos también se observó edema pulmonar generalizado. Del tejido pulmonar se logró el aislamiento de *T. pyogenes* o *M. haemolytica* de forma individual en 2 de los 3 corderos; en el tercero se aislaron ambos agentes (coinfeción). A su vez, en los 3 corderos se detectaron

anticuerpos contra agentes protozoarios, sin embargo, no fue detectado ADN de ninguno de estos agentes.

En el examen histopatológico se encontró bronconeumonía necrosupurativa severa coincidente con los hallazgos macroscópicos y aislamientos bacterianos. Sin embargo, también se hallaron lesiones en múltiples órganos, siendo endocarditis y miocarditis no supurativa multifocal leve y esteatosis hepática moderada generalizada común en estos tres corderos (Fig. 8). A su vez, en el cordero afectado únicamente por *M. haemolytica* también se apreció timitis intersticial mixta moderada, meningitis no supurativa leve y hepatitis periportal no supurativa leve. En el caso del cordero afectado por *T. pyogenes* también se observó glositis y miositis multifocales necrotizantes no supurativas. Estas lesiones no supurativas posiblemente se deban a otros agentes no identificados.

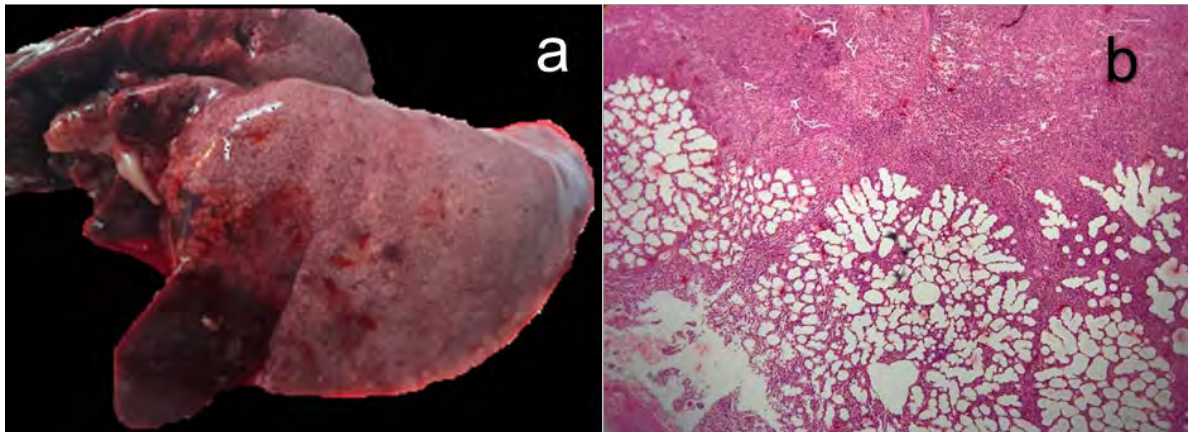


Figura 8. **a.** Pulmón de un cordero de 2 días de vida, con consolidación del parénquima en lóbulos apicales y edema pulmonar generalizado. **b.** Microfotografía de una sección del pulmón mostrado en la figura 8a, se aprecia bronconeumonía necrosupurativa severa en la parte superior de la foto, ocasionada por *Mannheimia haemolytica*. H&E 10×.

#### 5.3.2.1.4. *Listeria ivanovii*.

*Listeria ivanovii* fue diagnosticada en un feto mediante cultivo bacteriológico en pureza, lesiones compatibles fueron observadas en la histopatología, y se apreció inmunomarcación positiva mediante IHQ. Colonias beta-hemolíticas sospechosas de *Listeria* spp. desarrollaron en ASC luego de 24 h a partir de muestras de pulmón, líquido de abomaso, hígado y sistema nervioso central. Las colonias fueron

caracterizadas como *L. ivanovii* mediante pruebas bioquímicas (oxidasa, ureasa, indol, nitrato, motilidad, pruebas de actividad catalasa, beta-glucosidasa, hidrólisis de esculina, prueba de rojo de metilo-Voges-Proskauer, fermentación de carbohidratos y prueba de CAMP = *Staphylococcus aureus* negativo y *Rhodococcus equi* positivo). En el feto no se detectaron anticuerpos ni ADN de los agentes protozoarios analizados.

En este caso la IHQ fue realizada en pulmón, hígado y sistema nervioso central luego del aislamiento bacteriológico, para confirmar la presencia del agente junto a las lesiones histológicas, hallándose inmunomarcación positiva en los 3 tejidos. El feto afectado pertenecía a un sistema de producción de carne ubicado en la provincia de Santa Fe, donde se presentaron otros 8 abortos (10,6%) en el último período de gestación en una majada con 75 hembras gestantes. Sin embargo, solo un feto fue remitido al laboratorio para su análisis. El establecimiento suministraba como alimento silo de maíz a toda la majada, aunque no se logró el aislamiento de *Listeria* spp. a partir de muestras del silo. Durante la necropsia del feto a término, se observaron múltiples lesiones puntiformes, planas, circulares, de aproximadamente 1 mm de diámetro, bien delimitadas, de color blanquecino, diseminadas en la cápsula y parénquima hepático (Fig. 9). Histológicamente estas lesiones correspondieron a una hepatitis necrotizante supurativa multifocal aleatoria con la presencia de colonias bacterianas Gram positivas. Colonias similares también fueron observadas microscópicamente en el encéfalo (Fig. 9) y pulmón. Se observó bronconeumonía supurativa moderada a severa de distribución generalizada y meningoencefalitis no supurativa moderada. Otro hallazgo microscópico fue miocarditis necrotizante con infiltrado inflamatorio mixto focalizado.

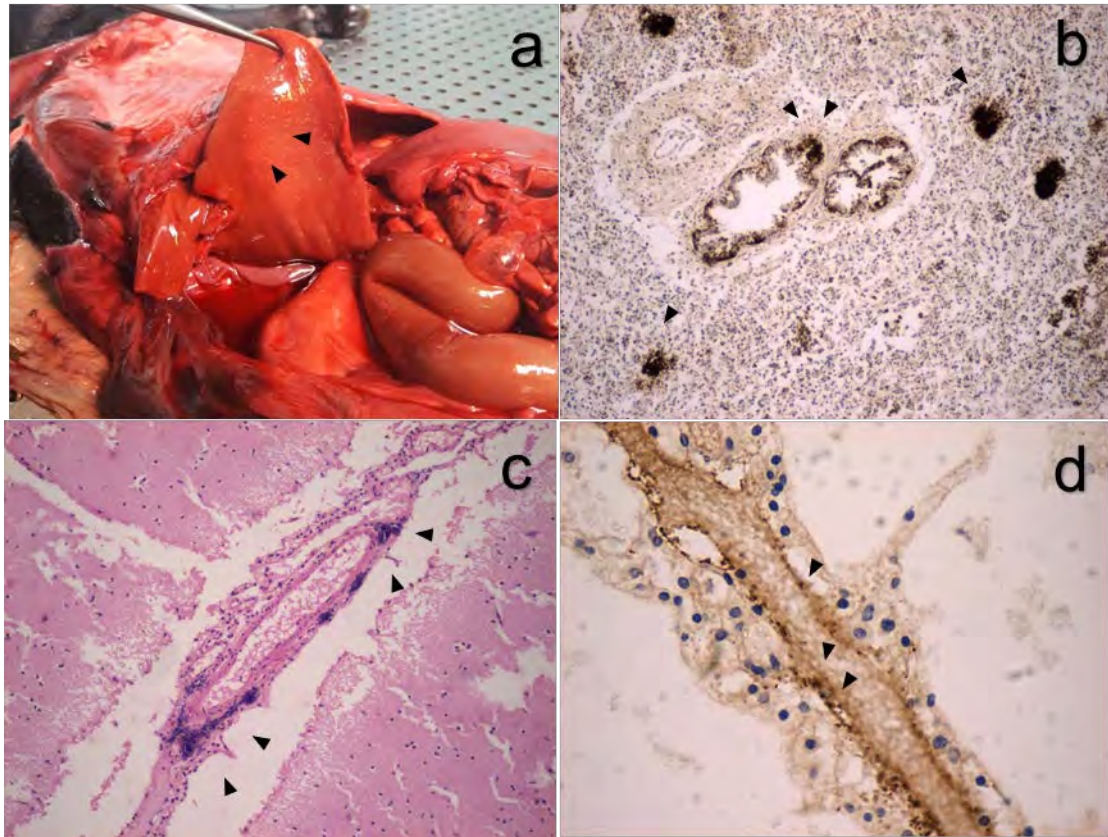


Figura 9. **a.** Múltiples lesiones puntiformes de aproximadamente 1 mm de color blanquecino (indicadas con puntas de flechas) visibles en la superficie capsular del hígado fetal. **b.** Pulmón: inmunomarcación positiva de *Listeria* spp. multifocal en el epitelio bronquiolar, bronquial y espacios alveolares (IHQ, 10×). **c.** Tallo cerebral: agregados bacterianos (indicadas con puntas de flechas) en la adventicia de un vaso sanguíneo meníngeo (H&E, 10×). **d.** Vaso sanguíneo meníngeo: inmunomarcación positiva (indicada con puntas de flechas) de *Listeria* spp. en localización subendotelial (IHQ, 40×).

#### 5.3.2.1.5. *Campylobacter jejuni*.

El aborto por *C. jejuni* fue diagnosticado mediante cultivo bacteriológico e histopatología en un feto de un sistema de producción de carne ubicado en la provincia de Buenos Aires. El aborto se produjo al final del segundo período de gestación (aproximadamente 85 días de edad gestacional). Durante la necropsia no se observaron lesiones macroscópicas de importancia, destacándose que la superficie del feto y la placenta se encontraban contaminados con heces y tierra (Fig. 10a). Al realizar el primocultivo en ASK a partir de placenta, desarrollaron colonias de color rosa pálido, redondas, convexas, lisas, con borde regular y brillantes, las cuales

desarrollaron hasta la cuarta estría siendo luego repicadas en mCCD (Fig. 10b). Con la tinción de Gram a partir de frotis de las colonias se observaron bacilos curvos. Se observó el movimiento mediante microscopio de contraste de fases, se realizaron repiques en aerobiosis, complementando luego con pruebas bioquímicas como oxidasa, hidrólisis de hipurato e hidrólisis de acetato de indoxilo. Se realizó la IFD para *C. fetus* siendo esta negativa. Todo esto permitió identificar al agente aislado como *C. jejuni*. En el feto no se detectaron anticuerpos ni ADN de los agentes protozoarios analizados. Los estudios histológicos determinaron la presencia de placentitis necrótica supurativa severa (Fig. 10 b y c), neumonía intersticial moderada no supurativa generalizada, enteritis no supurativa y epicarditis no supurativa moderada. A su vez, este feto fue negativo a todos los otros análisis realizados.

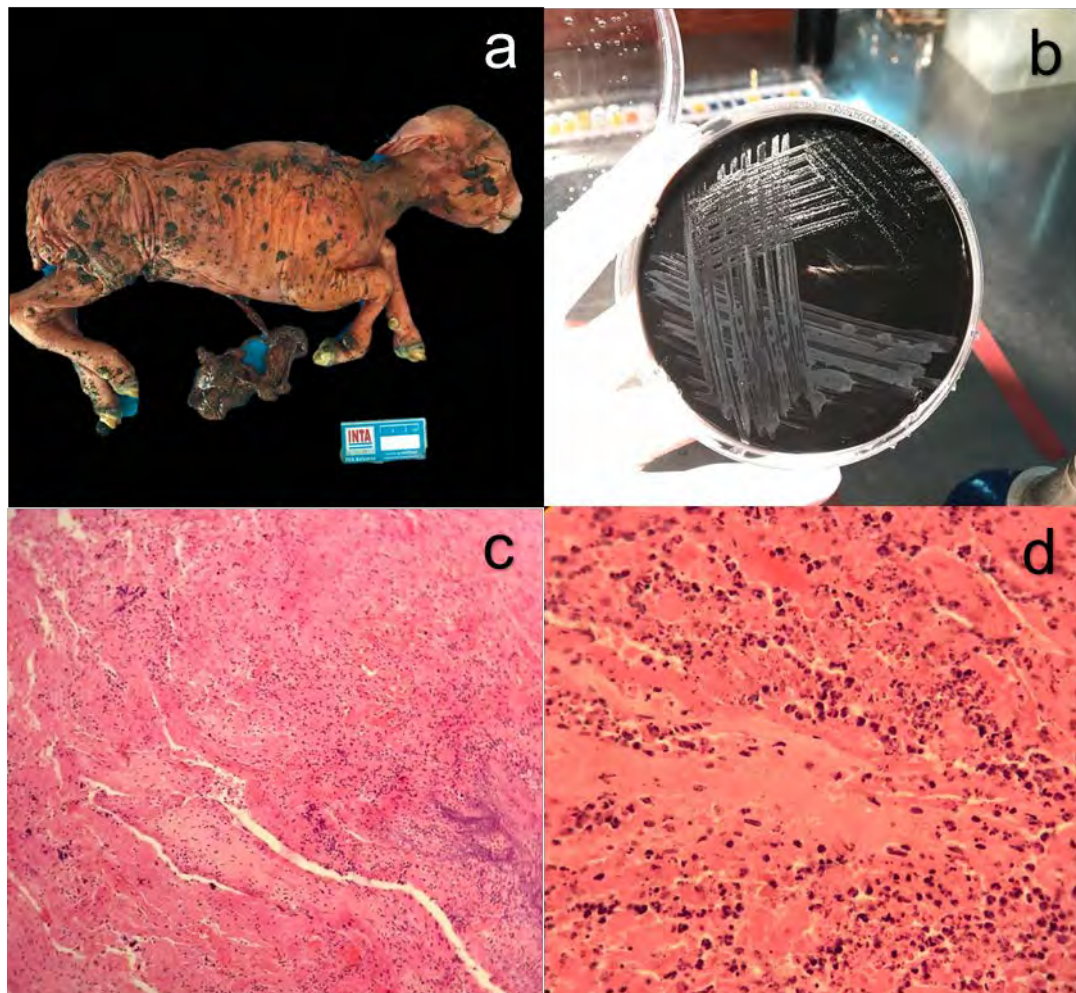


Figura 10. **a.** Feto ovino abortado a los 85 días de gestación estimada. La superficie cutánea y la placenta se encuentran contaminadas con heces y tierra. **b.** Placa de agar mCCD con desarrollo de colonias grisáceas, planas y húmedas, con tendencia a extenderse correspondientes con *Campylobacter jejuni*. **c.** Placenta: placentitis necrosupurativa severa (H&E, 10×). **d.** Placenta: placentitis necrosupurativa severa (H&E, 40×).



#### 5.3.2.2. Protozoos apicomplejos.

Los protozoos *T. gondii* o *N. caninum* fueron diagnosticados en 14 casos (8 fetos y 6 corderos) mediante detección de su ADN por PCR y de lesiones histológicas, detectándose además anticuerpos específicos mediante IFI en 7/14 especímenes (5 fetos y 2 corderos). Los 8 fetos y 6 corderos afectados pertenecían a sistemas de producción de carne y leche, ubicados en la provincia de Buenos Aires, Corrientes y Entre Ríos. En el caso de los abortos, todos correspondieron a fetos a término y 2/8 provinieron de una gestación gemelar. Por otra parte, las muertes perinatales ocurrieron en corderos de 1 a 3 días de vida.

A la necropsia en 5/14 especímenes se observaron lesiones macroscópicas. En 1/5 se observó anteversión completa de la articulación húmero-radial en el miembro anterior izquierdo, con palidez de los músculos asociados. El miembro posterior izquierdo estaba anquilosado. En este caso y como excepción se tomaron también muestras de médula espinal en sus diversas secciones. A través de la anamnesis se pudo determinar que este establecimiento ubicado en Entre Ríos, fue el único de los incluidos en el estudio donde las ovejas gestantes habían estado pastoreando un recurso forrajero con presencia de *Conium maculatum* (cicuta) durante los primeros meses de la gestación, lo que podría haber inducido el desarrollo de las malformaciones. En este establecimiento se produjeron otros 7 abortos de edad gestacional y con malformaciones esqueléticas similares a las aquí descritas, los cuales no fueron enviados al laboratorio para análisis. A su vez, 2 corderos pertenecientes a este mismo establecimiento, que tampoco fueron enviados para analizar, presentaron artrogriposis de los miembros anteriores, permaneciendo en la majada. El aborto presentado en este establecimiento enviado para análisis fue clasificado dentro de las patologías por protozoos, ya que las lesiones producidas y observadas histológicamente sugirieron que el feto no hubiera podido continuar viable en una eventual vida extrauterina. No encontramos una relación causal directa entre el aborto por protozoarios y las malformaciones.

Continuando con el análisis de los otros 4 corderos que a la necropsia presentaron lesiones, en el segundo analizado y perteneciente a un establecimiento ubicado en Corrientes, se observó anoftalmia unilateral izquierda y queilosquisis. Por el mismo motivo que en el caso anterior, este caso se atribuyó a agentes protozoarios, a pesar de que las malformaciones congénitas observadas son más probablemente atribuibles

a alguna otra causa no identificada. En los restantes 3 especímenes a la necropsia se observó momificación fetal.

Histológicamente se encontraron lesiones en múltiples tejidos siendo la neumonía intersticial no supurativa leve a moderada, endo-miocarditis necrotizante no supurativa multifocal leve a moderada (Fig. 11), glositis no supurativa multifocal leve a moderada, mielomeningoencefalitis necrotizante no supurativa multifocal leve a moderada y miositis necrotizante no supurativa multifocal leve a moderada las más frecuentemente encontradas (11/14). También se halló nefritis intersticial no supurativa moderada multifocal (6/14), hepatitis portal/periportal moderada a severa (5/14) (Fig. 11) y placentitis no supurativa intersticial con inflamación perivascular (1/14). Además, en 1 de los fetos diagnosticados con protozoos Apicomplejos se hallaron quistes protozoarios en el sistema nervioso central. A su vez, los resultados del cultivo bacteriológico, pruebas inmunodiagnósticas o moleculares realizadas a los 14 especímenes resultaron negativos para patógenos bacterianos de importancia clínica.

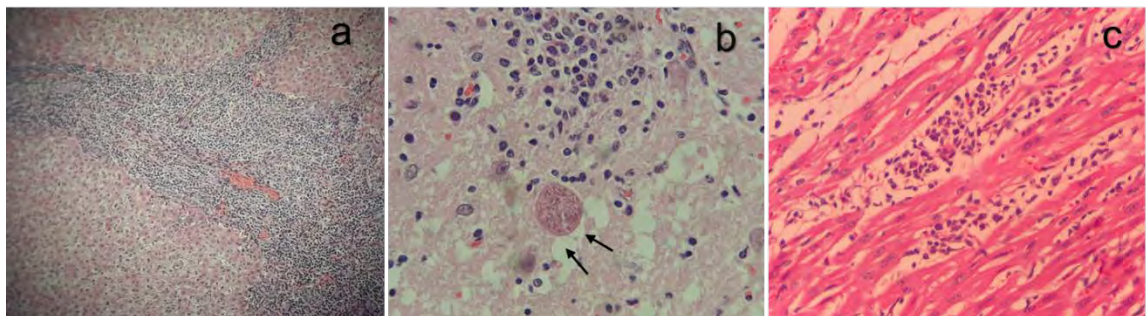


Figura 11. **a.** Hepatitis portal no supurativa severa en un cordero de 1 día de vida (H&E, 10×). **b.** Encefalitis no supurativa / gliosis focal con presencia de un quiste protozoario aledaño al foco (indicado con flechas) en un feto a término (H&E, 40×). **c.** Miocarditis no supurativa en el mismo que en **b.** (H&E, 40×).

### 5.3.3. Causas no infecciosas.

Las causas de muerte de etiologías no infecciosas ocurrieron en 25,9% (15/58) de los fetos (n = 2) y corderos (n = 13). Entre estas, el 73,3% (11/15) fueron presuntivamente categorizadas como el síndrome conocido como estrés-inanición-hipotermia (Tabla 6). También se registraron pérdidas de origen traumático en 2/15 casos (13,3%, ambos corderos) y distocias en 2/15 casos (13,3%, ambos fetos), como se describe más abajo.

#### 5.3.3.1. Estrés-inanición-hipotermia.

La muerte de 11/31 corderos recibidos se produjo durante los meses de julio y agosto del año 2018 y 2019 cuyas temperaturas y precipitaciones para las provincias de origen de los casos se presentan en la Tabla 7 en contraste con los respectivos registros históricos. Todos los establecimientos involucrados realizaban una producción principalmente de carne en sistemas extensivos, y estaban ubicados en las provincias de Buenos Aires (n = 9 casos, 3 establecimientos) o Corrientes (n = 2 casos, 1 establecimiento). En el caso del establecimiento ubicado en Corrientes, que envió 2 corderos en el mes de julio de 2018, con pesos de 2,5 y 2,6 kg, presentaba tanto ovejas paridas como por parir con condición corporal de entre 1 y 1,5 en escala de 1 a 5. A su vez, en el mes en el cual se produjo la muerte de estos corderos los registros promedio de lluvias (más del doble del promedio histórico) y temperaturas (algo inferiores al promedio histórico) en la región llevaron a sospechar que posiblemente tanto las condiciones climáticas como la pobre condición corporal de las madres pudieron predisponer a estas pérdidas.

Por otro lado, los 9 corderos provenientes de Buenos Aires fueron enviados durante el mes de agosto de 2018 así como también julio y agosto de 2019, cuando las temperaturas promedio registradas en la provincia fueron más altas que los respectivos promedios históricos, mientras que las precipitaciones fueron similares al promedio histórico, excepto para julio de 2019 cuando las precipitaciones estuvieron algo por encima de la media histórica (Tabla 8).

Los 11 corderos tenían entre 1 y 3 días de vida. Mediante las necropsias, análisis histopatológicos y datos de anamnesis se determinó que estas pérdidas podrían estar asociadas al síndrome de estrés-inanición-hipotermia, ya que se observó metabolización del tejido adiposo perirrenal y pericárdico (Fig. 12) y ausencia de calostro o leche en el abomaso. No se identificaron agentes bacterianos ni protozoarios en ninguno de estos casos. En relación con las lesiones histológicas, en 6/11 corderos analizados no se hallaron lesiones consideradas incompatibles con la vida. Sin embargo, en 3/11 las lesiones más frecuentemente halladas fueron congestión/hemorragia córtico-adrenal severa, esteatosis hepática generalizada severa, hepatitis periportal no supurativa leve, neumonía intersticial no supurativa leve, meconio intra-alveolar en los pulmones y miositis no supurativa multifocal leve. También se halló en 2/11 corderos endocarditis/ miocarditis no supurativa leve, enteritis intersticial no supurativa leve y nefritis intersticial no supurativa leve. En estos 5 casos las lesiones fueron muy leves como para ser consideradas incompatibles con

la vida, a la vez que los días que murieron estos corderos las condiciones climáticas (bajas temperatura, lluvias y/o viento) en los predios de origen fueron tales que nos llevaron a interpretar que la causa más probable de muerte fue estrés-inanición-hipotermia, mientras que las leves lesiones encontradas fueron interpretadas como hallazgos incidentales.

Tabla 8. Temperaturas y precipitaciones en las provincias de Corrientes y Buenos Aires durante los meses de julio y agosto de 2018 y 2019, y de 1951-2017.

		Corrientes		Buenos Aires	
		Temperatura	Precipitaciones	Temperatura	Precipitaciones
Promedio 1951-2017	julio	Mínima 7,9°C	44 mm	Mínima 3,1°C	55,7 mm
		Máxima 20,5°C		Máxima 12,7°C	
		Media 13,9°C		Media 7,8°C	
Promedio 1951-2017	agosto	Mínima 8,9°C	45 mm	Mínima 4,1°C	55,9 mm
		Máxima 22,4°C		Máxima 14,5°C	
		Media 15,4°C		Media 9,2°C	
Promedio 2018	julio	Mínima 6,7°C	99 mm	Mínima 8°C	125,3 mm
		Máxima 18,7°C		Máxima 13,5°C	
		Media 12,7°C		Media 10,5°C	
Promedio 2018	agosto	Mínima 6,3°C	54,5 mm	Mínima 8°C	54,3 mm
		Máxima 21,8°C		Máxima 17°C	
		Media 14,1°C		Media 12,3°C	
Promedio 2019	julio	Mínima 5,6°C	60,3 mm	Mínima 11,7°C	75,5 mm
		Máxima 19°C		Máxima 15,9°C	
		Media 12,5°C		Media 11,7°C	
Promedio 2019	agosto	Mínima 6,8°C	46 mm	Mínima 8,6°C	49 mm
		Máxima 23,4°C		Máxima 17,1°C	
		Media 14,8°C		Media 12,6°C	

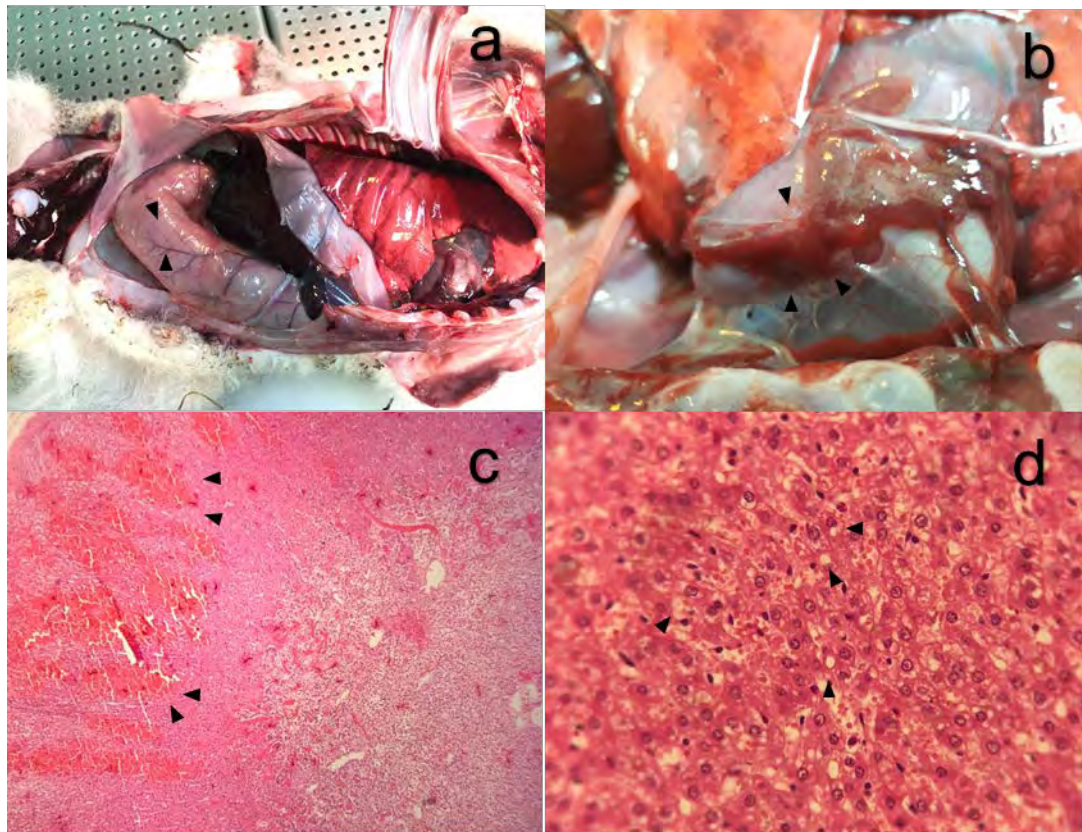


Figura 12. **a.** Cordero de 2 días de vida. Abomaso sin contenido sólido distendido por gas (puntas de flechas) y escasas reservas adiposas en el saco pericárdico. **b.** Otro cordero de 3 días de vida. El tejido adiposo pericárdico se encuentra atrófico (puntas de flechas). **c.** Hemorragia multifocal en la corteza de la glándula adrenal (puntas de flechas) en un cordero (H&E, 10×). **d.** Leve vacuolización citoplasmática de algunos hepatocitos (puntas de flechas) (H&E, 40×).

#### 5.3.3.2. Trauma.

Las muertes a causa de traumatismos fueron diagnosticadas mediante necropsia e histopatología. Los 2 corderos afectados, ambos de 1 día de vida, pertenecían a sistemas de producción de carne ubicados en la provincia de Buenos Aires.

A la necropsia en uno de los corderos se observó una herida transmural en la pared abdominal, con bordes hemorrágicos, tinción sanguinolenta en la lana alrededor de la herida y eventración a través de la herida de asas del intestino delgado que presentaban la serosa de color rojo oscuro (Fig. 13) y contenido sanguinolento. Esto nos hizo sospechar que el cordero pudo haber padecido un evento de depredación. Los análisis bacteriológicos y de agentes protozoarios resultaron negativos.

El otro cordero, externamente no presentó ninguna lesión, sin embargo, a la necropsia se observó ruptura de intestino delgado de 2-3 cm con líquido intestinal y fibrina en cavidad abdominal (peritonitis). En este caso se cultivó pulmón y líquido de

abomaso, aislando gran número de colonias bacterianas con características diversas a las 24 h del cultivo, sin clara predominancia de ninguna de ellas, lo que fue interpretado como contaminación secundaria a la ruptura intestinal. En este cordero también se detectaron anticuerpos contra ambos agentes protozoarios, sin embargo, su ADN no fue detectado. Histológicamente se identificó en ambos corderos meningitis no supurativa leve a moderada y nefritis intersticial no supurativa multifocal leve a moderada, por lo que no se descarta la acción secundaria de agentes protozoarios. Otras lesiones halladas únicamente en el cordero con ruptura intestinal fueron enteritis supurativa moderada a severa, congestión, hemorragia intestinal, neumonía intersticial no supurativa severa, hepatitis periportal no supurativa leve, epi-endocarditis no supurativa leve a moderada y serositis con infiltrado inflamatorio mixto severo en la pared del diafragma.

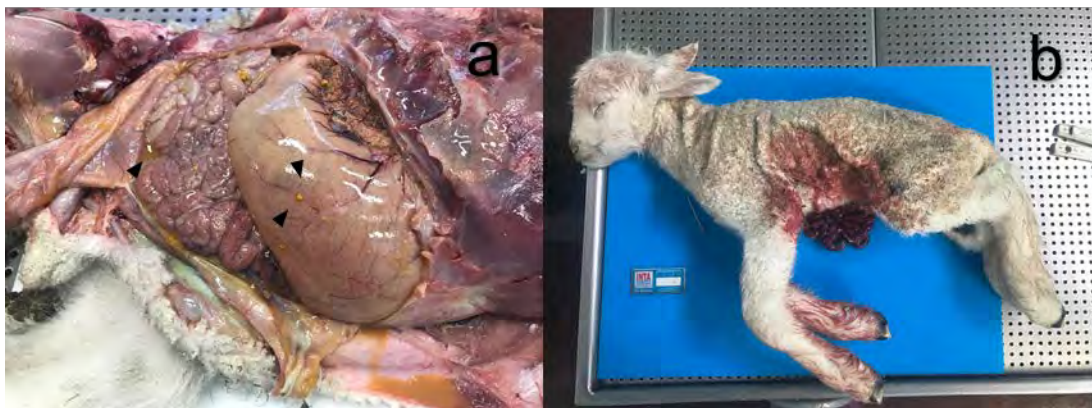


Figura 13. **a.** Peritonitis con líquido intestinal libre y fibrina (puntas de flechas) en la cavidad abdominal de un cordero de 1 día de vida. **b.** Otro cordero de 1 día de vida con eventración de asas intestinales hemorrágicas a través de una herida transmural en la pared abdominal ventral, y manchas sanguinolentas en la lana de la región aledaña a la herida y en las porciones distales de los miembros anteriores.

#### 5.3.3.3. Distocia.

Las distocias fueron diagnosticadas en 2 fetos a término mediante necropsia e histopatología en la cual se observó principalmente congestión/hemorragia adrenal y cerebelar. Los especímenes eran procedentes de 1 establecimiento de la provincia de Buenos Aires, dichos fetos presentaron pesos de 5,5 y 5,6 kg. Mediante la necropsia se observó que el manto lanar de ambos fetos estaba cubierto de meconio, ausencia de insuflación pulmonar, ruptura del hígado con sufusión peritoneal asociada (hemoabdomen), y edema subcutáneo, labial y lingual (Fig. 14). Los cultivos bacteriológicos fueron negativos. A su vez, en uno de estos corderos se detectaron

anticuerpos contra uno de los agentes protozoarios, sin embargo, su ADN no fue identificado. En el análisis histopatológico se observó en ambos fetos meningoencefalitis no supurativa multifocal leve a moderada, congestión/hemorragia adrenal y cerebelar, neumonía intersticial no supurativa leve a moderada y presencia de meconio en alvéolos pulmonares. Otras lesiones halladas fueron glositis no supurativa multifocal leve a moderada, miositis, miocarditis no supurativa multifocal leve a moderada y enteritis no supurativa leve a moderada. Si bien se hallaron lesiones histológicas que sugieren infección, atribuimos las muertes a distocia, en base a las lesiones macroscópicas encontradas. Sin embargo, no se descarta la acción de agentes protozoarios como agentes secundarios.



Figura 14. **a.** Edema en tejido subcutáneo submandibular (puntas de flechas) y cobertura de meconio en el manto lanar en un feto a término. **b.** El mismo feto que en **a** presentaba abundante sangre coagulada en el abdomen (hemoabdomen, (puntas de flechas) secundaria a ruptura hepática (no apreciable en la foto). El manto lanar se encuentra manchado de meconio. **c.** Otro feto a término con edema labial y lingual (puntas de flechas).

#### 5.3.4. Causas indeterminadas.

Los casos indeterminados fueron un 24,1% (14/58) del total de casos analizados, estando representados por 12 fetos y 2 corderos.

Del total de casos clasificados con causas indeterminadas 64,2% (9/14) presentaron lesiones histológicas sugestivas de un origen infeccioso o protozoario (8 fetos y 1 cordero), mientras que en 35,7% (5/14) no se observaron lesiones histológicas (4 fetos y 1 cordero) o se observaron lesiones que no eran atribuibles a una causa infecciosa o protozoaria. En la Tabla 9 se resumen los hallazgos anatomopatológicos más relevantes en los 9 casos (8 fetos y 1 cordero) con causa indeterminada, pero con lesiones atribuibles a un agente infeccioso o protozoario.

Los fetos y el cordero en los que la causa de muerte no pudo ser identificada pero que presentaron lesiones histológicas sugestivas de la acción de algún agente infeccioso o protozooario fueron clasificados como indeterminados (presuntamente) infecciosos o protozoarios. Estos ejemplares provinieron de 4 establecimientos ubicados en las provincias de Buenos Aires (3) y Corrientes (1).

Con respecto a los 5/14 fetos que fueron clasificados como indeterminados no infecciosos, 3/5 no presentaron lesiones, sin embargo, 2/5 presentaron lesiones macroscópicas y/o microscópicas. Uno de los fetos con lesiones provino de un establecimiento ubicado en la provincia de Corrientes, mientras que el otro de la provincia de Buenos Aires. A la necropsia el feto de la provincia de Corrientes estaba cubierto de líquido amniótico, con los músculos de los miembros anteriores de aspecto claro (grisáceo), mientras que en los miembros posteriores se observaron músculos atroficados y de consistencia gelatinosa. A su vez, la placenta presentó congestión y edema. El análisis bacteriológico resultó negativo. Por otra parte, se detectaron anticuerpos contra uno de los agentes protozoarios, sin embargo, el ADN de dicho agente no fue identificado por PCR. En el análisis histopatológico se observó miositis, glositis y miocarditis necrotizante generalizada no supurativa severa, meningoencefalitis no supurativa multifocal leve, hepatitis periportal no supurativa leve, neumonía intersticial no supurativa moderada y nefritis intersticial no supurativa leve. Este feto fue clasificado como aborto indeterminado no infeccioso, ya que se consideró que las lesiones observadas, discutiblemente podrían deberse a alguna enfermedad carencial (deficiencia vitamínico-mineral). Sin embargo, al no haber realizado las mediciones correspondientes de dichos elementos, la causa de las lesiones fue indeterminada. Aunque cabe la posibilidad de que las lesiones inflamatorias descritas en varios tejidos de este feto sean secundarias a una causa indeterminada infecciosa o protozoaria, el caso no fue clasificado dentro de esta categoría.

Con respecto al otro feto el cual provino de la provincia de Buenos Aires y fue clasificado como indeterminado no infeccioso, presentó lesiones macroscópicas. Este feto tenía alrededor de 120-130 días de gestación, con grado de autólisis 3 (el feto se envió sin refrigeración y arribó al laboratorio 7 días luego de su envío). A la necropsia presentó hemorragias en subcutáneo, colecta sanguinolenta en cavidad abdominal y pericárdica, hígado aumentado de tamaño, en la cara diafragmática superficie irregular de color gris blanquecino, al corte nódulos gris-pardo de diversos tamaños ( $\leq 1,5$  cm de diámetro). El análisis bacteriológico resultó negativo. No se hallaron anticuerpos y/o



ADN de agentes protozoarios. Al análisis histológico no se hallaron lesiones que hicieran sospechar de un agente infeccioso.

Tabla 9. Edad, grado de autólisis y hallazgos anatomopatológicos en nueve fetos (F) y un cordero (C) con diagnóstico causal indeterminado, pero con lesiones macroscópicas y/o microscópicas sugestivas del accionar de agentes infecciosos o protozoarios.

	Edad estimada	Necropsia	Histopatología
F1	60 días de gestación	Autólisis grado 3 - Edema subescapular	Meningitis NS difusa moderada, hepatitis periportal NS moderada
F2 <sup>1</sup>	140 días de gestación	Autólisis grado 3 - Edema subcutáneo abdominal, líquido serosanguinolento en cavidades torácica y abdominal. Pulmón: petequias en dorsal del lóbulo diafragmático izquierdo	Neumonía bronco-intersticial con infiltrado inflamatorio mixto. Tinitis INS leve. Nefritis INS leve. Enteritis NS leve a moderada. Hepatitis periportal NS moderada
F3	140 días de gestación	Sin lesiones	Neumonía INS moderada. Glositis INS multifocal
F4 <sup>1</sup>	140 días de gestación	Autólisis grado 3 - Sin lesiones	Neumonía INS moderada. Enteritis INS leve
F5	140 días de gestación	Sin lesiones	Neumonía INS severa
F6 <sup>1,+</sup>	130-140 días de gestación	Autólisis grado 2 - Puntillado hemorrágico de distribución multifocal a coalescente en el parénquima pulmonar.	Neumonía INS leve, miocarditis, miositis NS multifocal leve a moderada
F7 *	140 días de gestación	Recepción de órganos fetales. No se accedió a los datos de necropsia	Meningoencefalitis NS, neumonía INS moderada, endo y miocarditis NS moderada a severa generalizada
F8 *	140 días de gestación	Recepción de órganos fetales. No se accedió a los datos de necropsia	Neumonía INS moderada difuso, endocarditis NS leve a moderada
C <sup>+</sup>	3 días de vida	Autólisis grado 2 - Pulmón: patrón alveolar marcado, impresiones costales y atrofia de	Nefritis INS moderada. Hepatitis periportal NS leve. Neumonía INS

la grasa pericárdica y perirrenal

moderada. Enteritis INS leve a  
moderada. Endocarditis NS leve.  
Meningitis NS leve.

---

<sup>1</sup> Casos en los que se detectaron anticuerpos contra *T. gondii* y/o *N. caninum* por medio de inmunofluorescencia indirecta. \* Estos fetos eran mellizos. <sup>+</sup> Estos casos provenían de un mismo establecimiento ubicado en Buenos Aires. NS: no supurativa. INS: intersticial no supurativa.

## 6. DISCUSIÓN

En el presente trabajo se determinó la seroprevalencia aparente de *C. abortus* (% de seropositividad al ELISA) y *Leptospira* spp. en 8 tambos ovinos de la provincia de Buenos Aires, constituyendo el primer trabajo de este tipo en la provincia.

La clamidiosis ovina es una causa importante de aborto y muerte perinatal en varios países del mundo. La detección de anticuerpos en un rebaño evidencia la exposición al agente etiológico (Hvidsten *et al.*, 2009; Mora Días *et al.*, 2015) y es un hallazgo importante desde el punto de vista epidemiológico. Allam *et al.* (2017) indicaron que la prueba de IDEXX de ELISA indirecta usada en esta tesis es un método recomendado para la detección de IgG anti-*C. abortus*. Sin embargo, el hecho de que la prueba también pueda detectar anticuerpos anti-*C. pecorum* (Livingstone *et al.*, 2005; Casson *et al.*, 2007; Wilson *et al.*, 2009; Moori Bakhtiari *et al.*, 2011; OIE, 2018a; Bommana *et al.*, 2019) indica que la seroprevalencia de *C. abortus* podría estar sobreestimada en nuestro trabajo. Un estudio reciente sugiere que una elevada proporción de rumiantes expuestos a *C. pecorum* pero no a *C. abortus*, e incluso de rumiantes no expuestos a ninguno de estos dos agentes, pueden resultar falsamente positivos a *C. abortus* mediante el ELISA indirecto comercializado por IDEXX confeccionado con antígeno completo (Bommana *et al.*, 2019). Si bien en la presente tesis no se evaluó la especificidad del kit, el cual según el fabricante permitiría la detección de anticuerpos específicos para *C. abortus*, sería conveniente realizar más investigaciones para determinar si efectivamente se produjo la detección de anticuerpos correspondientes a varias especies de *Chlamydia*. Desafortunadamente, en el presente trabajo, debido a restricciones financieras no fue posible evaluar nuevamente los animales seropositivos mediante un kit serológico con mayor especificidad como el indicado por Bommana *et al.* (2019), por este motivo no se pudo confirmar si los resultados obtenidos se debieron, al menos parcialmente, a reacciones cruzadas con *C. pecorum*.

La especificidad de la prueba diagnóstica es extremadamente importante para calcular la prevalencia real en función de la prevalencia aparente. A pesar de que desconocemos la verdadera especificidad del kit de ELISA usado, el trabajo de Bommana *et al.* (2019), y otros trabajos allí citados, indican que la especificidad en ovinos y bovinos estaría muy por debajo del 100% indicado por el fabricante del kit para caprinos. A su vez esta especificidad sería aún menor en regiones endémicas para otras especies de *Chlamydia*, como *C. pecorum*, cuya situación epidemiológica es mayormente desconocida en rumiantes de Argentina. El desconocimiento de la

especificidad del kit dificulta la estimación de la prevalencia real en nuestro estudio, motivo por el cuál decidimos presentar los resultados como prevalencia aparente y someter este resultado a la siguiente discusión.

Al calcular la prevalencia real mediante una herramienta disponible públicamente online (<http://winepi.net/sp/index.htm>) para una población de 1098 animales, con una muestra de 485 animales, con resultado positivo en 38 animales (como obtuvimos en este estudio), y un nivel de confianza de 95%, el valor de prevalencia real cambia importantemente, como es de esperarse, a medida que cambia la especificidad de la prueba. Usando datos de sensibilidad (89-95%) y especificidad (99,9%) cercanos a los provistos por el fabricante del kit, la prevalencia real estimada sería de 8,7% (6,83 a 10,58%) y de 7,27% (5,54 a 9,0%) para sensibilidades de 89% y 95%, respectivamente. Ahora bien, considerando que la especificidad de la prueba en ovinos sería menor que la provista por el fabricante del kit para caprinos (Bommana *et al.*, 2019), nos preguntamos cómo influiría sobre el cálculo de prevalencia real si la prueba tuviera especificidades decrecientes, manteniendo para el cálculo las sensibilidades dentro del rango provisto por el fabricante del kit (89-95%). Los resultados de este cálculo indican que con especificidades del rango de 92-93% la prevalencia real sería cercana a cero. Esto resalta la importancia de utilizar pruebas de alta especificidad.

Por otro lado, cabe destacar que los puntos de corte usados para identificar un resultado como positivo, sospechoso o negativo en el ELISA usado en esta tesis, no fueron establecidos en poblaciones ovinas de Argentina, en las que la prevalencia de *C. abortus* es ampliamente desconocida, pudiendo esto representar una fuente adicional de error. Con estas salvedades en mente, nos embarcamos a discutir los resultados de seroprevalencia aparente (% de positividad al ELISA).

De los 8 tambos ovinos analizados, todos (100%) presentaron animales seropositivos a *C. abortus*, y el porcentaje de seropositividad general a nivel individual fue de 7,8%, con un rango de 2,7% a 19,4%. Al no contar con datos referentes al estado reproductivo en el cual se encontraban las hembras al momento del muestreo, no fue posible evaluar la asociación entre la seropositividad y desempeño reproductivo. Tampoco se recibieron muestras de placentas o fetos abortados para investigación diagnóstica de estos predios. Trabajos realizados por Lenzko *et al.* (2011) y Aljumaah y Hussein (2012) con el mismo ELISA usado en esta tesis determinaron prevalencias serológicas aparentes para *C. abortus* de 7,52% y 10% en ovejas de Arabia Saudita y Alemania respectivamente, coincidiendo con la

seroprevalencia aparente reportada en el presente trabajo. En majadas estudiadas en otros países de Europa, se relevaron seroprevalencias aparentes del 1,2% al 50,5% (Mainar Jaime *et al.*, 1998; Borel *et al.*, 2004; Díaz *et al.*, 2014). A su vez, estudios realizados en EEUU y Alemania mostraron que varias especies de *Chlamydia* pueden circular conjuntamente en poblaciones de rumiantes domésticos. Por este motivo, respuestas humorales podrían consecuentemente diferir entre los animales infectados con una única o múltiples especies de *Chlamydia* (Lenzko *et al.*, 2011; Rahman *et al.*, 2015).

Por otra parte, en algunos establecimientos analizados encontramos seroprevalencias aparentes relativamente elevadas (>10%) y una asociación con la raza Frisona Milchscaf. Sin embargo, como se indicó en la sección de resultados, se requieren mayores estudios para poder establecer una asociación causal, ya que la asociación hallada podría deberse a otros factores no analizados en esta tesis. Según Qin *et al.* (2014) la presencia de muchos animales seropositivos en una majada podría tener un efecto sobre el alto nivel de seroprevalencia en la región; sin embargo, la alta seroprevalencia puede no estar asociada con la situación epidemiológica de la región, pero sí con un alto nivel de infección a nivel del rebaño. A su vez, el origen geográfico, saneamiento, climas y prácticas de manejo aplicadas son factores de riesgo asociados con la seroprevalencia de *C. abortus* (Mainar Jaime *et al.*, 1998; Pinheiro *et al.*, 2010; Hireche *et al.*, 2015). Según Lenzko *et al.* (2011) factores como la virulencia de las cepas, inmunidad individual, razas y presencia de otros microorganismos pueden estar relacionados con una mayor probabilidad de presentación de abortos por *Chlamydia*. Nosotros hallamos las seroprevalencias aparentes más elevadas en establecimientos con animales de la raza Frisona Milchscaf, sin embargo, deberían realizarse más estudios para corroborar si dicha mayor prevalencia aparente está efectivamente asociada a la raza o a un alto nivel de infección en los rebaños que no tengan relación con la raza, pudiendo deberse dicha asociación a un sesgo o efecto de confusión. Díaz *et al.* (2014) hallaron una asociación entre mayor tamaño del lote con mayor seroprevalencia, probablemente dada por un mayor contacto y difusión del material contaminado. En el presente estudio las 5 majadas chicas (de entre 34 y 84 animales) presentaron mayor seroprevalencia aparente a *C. abortus* que las 3 majadas grandes (de entre 196 y 371 animales); sin embargo, estas diferencias no fueron estadísticamente significativas.

También, se debe considerar el efecto subclínico de las infecciones por *C. abortus*, las cuales tienen repercusiones notables en términos económicos (Reinhold *et al.*,

2011). En rodeos con un alto porcentaje de portadores de *Chlamydia* se ha observado una disminución de la ganancia diaria de peso (Reinhold *et al.*, 2011; Poudel *et al.*, 2012) y reducción del rendimiento de leche (Biesenkamp-Uhe *et al.*, 2007). Según Anstey *et al.* (2019) el impacto de las infecciones subclínicas por *Chlamydia* es más importante a nivel productivo del rodeo que considerando una afección individual. En el presente estudio, no se evaluaron las pérdidas reproductivas y productivas clínicas ni subclínicas en ninguno de los 8 tambos analizados.

La edad de los animales también es un factor predisponente para la seropositividad a *C. abortus*, lo que indica una mayor probabilidad acumulativa de exposición conforme pasa el tiempo (Vogel, 2011; Qin *et al.*, 2014). Hireche *et al.* (2015) determinaron seroprevalencias más altas en ovejas de 24 y 35 meses en comparación con ovejas de menor edad, sin embargo, no encontraron diferencias significativas. En el presente trabajo, la seroprevalencia fue mayor en las ovejas que en las borregas, sin embargo, estas diferencias no fueron significativas, coincidiendo con resultados obtenidos por Díaz *et al.* (2014) y Allam *et al.* (2017). La inmunidad protectora contra *C. abortus* se desarrolla alrededor del parto o el aborto después de una infección primaria y se asocia con la seroconversión que ocurre como resultado de la multiplicación masiva del agente en la placenta (Longbottom *et al.*, 2013). Luego de la infección los títulos de anticuerpos contra *C. abortus* se elevan alcanzando el máximo en el momento del aborto. La duración de dichos títulos ha sido tema de discusión de varios investigadores, indicando que, si bien disminuyen, continúan elevados luego de dos años, pudiendo ser detectados al momento del celo y disminuyendo luego en el parto subsiguiente (Livingstone *et al.*, 2009; Gutiérrez *et al.*, 2011; Longbottom *et al.*, 2013). Por su parte, Espí *et al.* (2001) y Livingstone *et al.* (2017) determinaron que los títulos disminuyen gradualmente llegando con el tiempo a negativizarse. Estas afirmaciones podrían explicar los hallazgos de nuestro trabajo en cuanto al seguimiento serológico de 6 animales inicialmente positivos al ELISA en una única majada. La infección en esos animales pudo haber sucedido en períodos previos y por este motivo, los títulos de anticuerpo habrían descendido, razón por la cual no fueron detectados en el segundo muestreo para 5 de ellos.

A su vez, en ninguno de los 6 hisopados vaginales realizados se pudo identificar ADN de *C. abortus* ni de otras especies de *Chlamydia*. Resultados similares a los del presente estudio fueron obtenidos por Campos Hernández *et al.* (2014) al trabajar con cabras adultas seropositivas e hisopados vaginales y rectales. Según Livingstone *et al.* (2009) y Longbottom *et al.* (2013) en el momento del celo puede detectarse ADN de *C.*

*abortus* en hisopados vaginales incluso en el segundo año post infección; sin embargo, la cantidad es escasa y cercana al límite de detección de la PCR. Los hisopados vaginales y muestras de útero tomados fuera de este período resultan negativas por PCR en tiempo real y cultivo celular, y la histopatología no permite revelar el agente en muestras de útero (Sharma *et al.*, 2008; Hvidsten *et al.*, 2009; Ababneh *et al.*, 2014). Según Kalender *et al.* (2013) el hecho de que fetos analizados resulten positivos mientras que algunos hisopados vaginales no, puede deberse a un bajo número de *C. abortus* en estos últimos. Sin embargo, Allam *et al.* (2017) hallaron ADN de *C. abortus* mediante PCR en tiempo real en 8 de 8 hisopados vaginales de ovejas clínicamente sanas seropositivas. En el presente trabajo, las muestras de hisopados vaginales en las 6 ovejas fueron tomadas 1 mes luego del inicio de la temporada de partos, sin embargo, no se identificó ADN o estructuras compatibles con *C. abortus*, esto pudo haberse debido a una escasa recolección de células infectadas al no coincidir con algún período de mayor presencia del patógeno en el tracto reproductivo, o a seropositividad debida a una reacción cruzada con otra/s especie/s de *Chlamydia*. La PCR anidada utilizada hubiera detectado otras especies del género *Chlamydia* en los hisopados vaginales, aunque no está claro si la vaginal es una vía posible o frecuente de excreción de especies de *Chlamydia* distintas de *C. abortus* en ovinos.

En cuanto a la majada ubicada en el partido de Balcarce, a pesar de tener registros de abortos durante el período de seguimiento, no se pudo concretar el envío de fetos ni placentas para analizar, muestras indispensables en el diagnóstico de este patógeno. En este establecimiento, de las 6 hembras que fueron seropositivas al primer muestreo, 1 abortó, 1 no presentó cordero (no pudiéndose determinar si quedó o no preñada luego del servicio, si abortó en caso de haber quedado preñada, o si perdió el cordero en la etapa postnatal en caso de haber parido con normalidad), mientras que las 4 restantes presentaron pariciones normales. En el caso de las 4 hembras cuya parición fue exitosa, la serología correspondiente al segundo muestreo fue negativa, lo que indicaría que estos individuos podrían haber sufrido infecciones asintomáticas, o eventualmente padecido la enfermedad en períodos reproductivos previos, por tal motivo no fue identificado material genético de *Chlamydia* spp. en los hisopados vaginales ni detectados anticuerpos al momento del segundo muestreo serológico. Del mismo modo, en la hembra que no presentó cordero la serología observada en el segundo muestreo fue negativa, esto podría indicar que la hembra habría estado infectada desde períodos reproductivos previos, lo que llevó a que se

volviera seronegativa en el segundo muestreo. Se desconoce si esta hembra quedó preñada luego del servicio, y de ser así si perdió el cordero en la etapa gestacional o postnatal. En la única de estas 6 hembras confirmada como abortada, cuya serología fue positiva en ambos muestreos, las interpretaciones más probables son las mismas, incluyendo infección asintomática e infección en períodos reproductivos previos, aunque también cabe la posibilidad de que la ausencia de detección de ADN de *Chlamydia* spp. fuera a causa de una escasa recolección de células infectadas en el hisopado vaginal, o que la seropositividad haya sido debida a infección con otra especie de *Chlamydia* (por ejemplo, *C. pecorum*), sin eliminación vaginal de esta especie al momento de obtener el hisopado.

Ya que algunos trabajos indican que el kit de ELISA utilizado en el presente trabajo puede detectar anticuerpos tanto para *C. abortus* como para *C. pecorum* (Bommana *et al.*, 2019), y que, por este motivo se haya sobreestimado la seroprevalencia de *C. abortus*, se plantea la necesidad de realizar futuros estudios sobre los sueros positivos con otros métodos más específicos. Sin embargo, el hecho de que ambas especies puedan causar abortos en ovinos denota la importancia de los hallazgos de este trabajo (Clune *et al.*, 2021; Westermann *et al.*, 2021).

Cuando se evaluó la seroprevalencia de *Leptospira* spp. no se encontraron seroreactores, lo que indicaría que la seroprevalencia en esos tambos sería < 4%. Si bien no se encontraron seroreactores a este agente, es importante destacar que 33/485 de los sueros analizados presentaban anticuerpos contra este agente, sin embargo, los títulos presentes no alcanzaron al punto de corte 1/100 para ser identificados como sueros positivos. En este sentido la OIE (2018b) indica que el propósito de la técnica de MAT es demostrar la ausencia de infección en animales individuales y realizar vigilancia, permitiendo a su vez, la confirmación de casos clínicos. También indica que la técnica de MAT tiene limitaciones en el diagnóstico de la infección crónica en los animales aislados y en el diagnóstico de las infecciones endémicas de los rebaños. Los animales infectados pueden abortar o ser portadores renales y genitales mostrando títulos de MAT por debajo del título mínimo significativo ampliamente aceptado de 1/100. La prevalencia de la enfermedad es variable tanto entre países como incluso dentro de una misma región (Fang *et al.*, 2014). En Argentina, Brihuega (2013) menciona una alta seroreactividad a *Leptospira* en animales, encontrando un 57% (2898/5085) en bovinos, 59% (149/253) en equinos, 57% (71/125) en porcinos, 11% (26/235) en caprinos y 18% (37/204) en caninos. Por su parte, Cacchione *et al.* (1980) y Draghi (2012) determinaron una seroprevalencia



para *Leptospira* spp. serovar Pomona, Tarassovi y Wolffi del 5% (95/1910) y 17,3% (446/2577) en sueros ovinos remitidos para diagnóstico etiológico de causas de mortalidad en la provincia de Corrientes. Brihuega *et al.* (1984) hallaron 28,4% (52/183) de seroprevalencia en ovinos de la provincia de Neuquén con predominio de los serovares Pomona y Butembo. Robles *et al.* (2014) describieron seroprevalencias de entre 10% y 12% en ovinos de Río Negro para los serovares Pomona y Ballum. Por su parte, el Departamento de Leptospirosis de la Dirección de Laboratorios y Control Técnico (DILACOT) del Servicio Nacional de Sanidad y Calidad Agroalimentaria (SENASA) informó prevalencias en ovinos del 0 al 47,36% (Seijo *et al.*, 2001) en diferentes regiones del país. Según Monahan *et al.* (2009) algunos túbulos renales que presentan leptospiras están rodeados de infiltrado inflamatorio, mientras que otros carecen de cualquier inflamación obvia, tal vez indicando que tales túbulos están colonizados recientemente o que las bacterias están evadiendo de alguna manera al sistema inmunológico. Esta situación estaría asociada a infecciones crónicas subclínicas o asintomáticas (Ellis, 2015). En el presente trabajo, la ausencia de seroreactores a *Leptospira* posiblemente se debió a que las muestras analizadas correspondieron a animales clínicamente sanos y que al utilizar la técnica MAT cuyo límite de detección está basado en la endemicidad de la enfermedad no se lograron identificar anticuerpos que permitieran clasificarlos como animales positivos. Previo a la realización de cada prueba los antígenos utilizados fueron analizados bajo microscopio de campo oscuro para corroborar vitalidad y pureza, en un intento de reducir la posibilidad de falsos negativos a causa de antígenos de mala calidad. Por otro lado, al observar aglutinaciones (sin llegar al punto de corte de aglutinación del 50% de las leptospiras) en algunos sueros analizados indicaría que los antígenos utilizados eran aptos. Fang *et al.* (2014) en Nueva Zelanda obtuvieron un 56,5% (224/396) de ovejas seropositivas a los serovares Hardjo y Pomona (título  $\geq 1/48$ ) tomando muestras de matadero. Estudios realizados por Costa *et al.* (2017) en majadas han informado el predominio de bajos títulos de anticuerpos anti-*Leptospira*, habiendo analizado no solo los mismos 8 serovares utilizados en la presente tesis, sino también otros serovares considerados relevantes para su región (Paraíba, Brasil). Ellis *et al.* (1981) evaluaron el estado de portador renal de bovinos usando MAT y cultivo bacteriológico, y reportaron que el 46,4% de los portadores renales (cultivo positivo) presentaron títulos  $< 1/100$ . Con relación a esto, Otaka *et al.* (2012) consideraron que la técnica de MAT no es adecuada para identificar portadores a nivel individual, pero es una buena herramienta para monitoreo en majadas. A pesar de

esto, no lo consideraron como predictor de portadores ya que hasta un 33,3% (5/15) de la majada no reactiva puede eliminar leptospiras en la orina. Además, en ambientes donde la enfermedad es endémica, la presentación de animales asintomáticos que actúan como transmisores es común (Ellis, 2015). Los resultados hallados indicarían que alrededor de 452 ovinos analizados en esta tesis no estuvieron expuestos a esta espiroqueta, aunque no puede descartarse que algunos animales fuesen portadores asintomáticos seronegativos o que hubieran estado expuestos a serovares no evaluados en este estudio. Mientras que los 33 restantes podrían haber estado expuestos aunque los títulos no fueron suficientes para ser clasificados como seropositivos. En este sentido, Almeida *et al.* (2019) indicaron que en ambientes donde la enfermedad es endémica es común la presencia de animales asintomáticos, siendo estos individuos los más importantes desde el punto de vista epidemiológico, ya que no están identificados y actúan como transmisores para otros animales. A su vez, varios investigadores aislaron y detectaron por PCR *Leptospira interrogans* en ovejas adultas que eran seronegativas o tenían títulos bajos ( $< 1/100$ ) de anticuerpos anti-*Leptospira* (Silva *et al.*, 2007; Lilenbaum *et al.*, 2008; De Carvalho *et al.*, 2011; Director *et al.*, 2014; Almeida *et al.*, 2019). En el presente trabajo únicamente se realizó la serología de los individuos de los tambos ovinos, de los que no se tomaron muestras para PCR. La eventual posibilidad de portadores subclínicos que eliminan la bacteria en el ambiente resalta la necesidad de realizar seguimientos en las majadas que involucren más de una técnica de diagnóstico que permita identificar este agente zoonótico. Por lo que la seroprevalencia determinada en el presente estudio no indica la inexistencia de leptospirosis en este tipo de sistemas productivos, simplemente la ausencia de seroreactores y una seroprevalencia  $< 4\%$  al momento del muestreo.

En cuanto al objetivo tendiente a caracterizar las causas de aborto y muerte perinatal en ovinos de Argentina, se lograron estudiar un total de 27 fetos abortados y 31 corderos muertos en la etapa perinatal, procedentes de diferentes regiones del país. Si bien este es el trabajo más extenso sobre la temática a nivel nacional, la baja cantidad de casos estudiados, y el hecho de que la mayoría de los fetos y corderos proviniera de un solo establecimiento, son grandes limitantes de este estudio.

Al analizar en conjunto abortos y muertes perinatales se determinó que la principal causa de pérdidas fue de origen bacteriano/protozoario, seguida por causas no infecciosas y finalmente casos indeterminados, coincidiendo con los hallazgos obtenidos por Holmøy *et al.* (2016). Sin embargo, en este punto es importante destacar que posiblemente algunas muertes perinatales producto de agentes

bacterianos estuvieron predisuestas por causas no infecciosas previas, las que pueden haber determinado reducción del consumo de alimento y alteraciones en las interacciones fetomaternas, deviniendo en infección secundaria y muerte, particularmente para los patógenos oportunistas como *E. coli*, *Providencia* sp., *T. pyogenes* y/o *M. haemolytica*.

En los abortos, el diagnóstico más frecuente estuvo asociado a causas indeterminadas con sospecha del accionar de uno o más agentes infecciosos/protozoarios no detectados por los métodos utilizados en el estudio, seguido por protozoos apicomplejos (que colectivamente fueron las principales causas de aborto identificadas) y finalmente agentes bacterianos. A su vez, los grados de autólisis 2 y 3 fueron los más frecuentes, y esto explicaría en parte, la dificultad para llegar al diagnóstico etiológico y la consecuente cantidad de casos indeterminados. En relación con esto existen diversos motivos por los cuales no se pueden establecer las causas de muerte. Según Bartley *et al.* (2019) la autólisis dificulta los exámenes histopatológicos. Sin embargo, Van den Brom *et al.* (2012) postularon que los casos indeterminados estarían asociados a causas no infecciosas difíciles de identificar. En el presente trabajo, en 9 fetos sin diagnóstico etiológico, se pudo determinar por histología la presencia de lesiones inflamatorias que presuponen el accionar de agentes infecciosos o protozoarios. A pesar de esto, se coincide con ambos autores, ya que posiblemente en los casos indeterminados la imposibilidad de llegar al diagnóstico estuvo asociado al grado de autólisis el cual disminuyó las posibilidades de apreciar un mayor número de lesiones histológicas, mientras que en otros casos posiblemente se debió a causas no infecciosas difíciles de determinar. También es importante indicar que, si bien se abarcó un gran número de agentes bacterianos y protozoarios, algunos agentes bacterianos (por ejemplo, *Coxiella burnetii*), virales (por ejemplo, *Pestivirus*, *Orbivirus*, *Bunyavirus*, etc.) y protozoarios (por ejemplo, *Sarcocystis* spp.) no fueron testeados, los cuales podrían estar relacionados a alguna de las pérdidas observadas. A su vez, si bien la remisión de placenta solo se dio en 9/27 fetos, contar con esta muestra ayudó a alcanzar algunos diagnósticos bacterianos, siendo indispensable para uno de ellos en el que el agente causal (*C. jejuni*) sólo pudo ser identificado en la placenta.

Con relación al momento en el cual se produjeron los abortos y las muertes perinatales, se detectó un gran número de abortos que coincidieron con el tercer período de gestación, presentándose un menor número de casos en el segundo período y ninguno en el primero. Si bien los abortos pueden ocurrir en cualquier

período de la gestación, debido a los sistemas productivos (extensivos) predominantes en nuestro país, es más fácil detectar las pérdidas en el segundo y tercer período de la gestación, ya que el tamaño de los fetos es mayor y por lo tanto la facilidad para encontrarlos en el campo. Sin embargo, algunos autores también reportan que la presentación de abortos en determinado momento de la gestación puede estar relacionado a determinados patógenos (Arranz-Solís *et al.*, 2015; Castaño *et al.*, 2016). En esta tesis las pérdidas ocasionadas por los agentes bacterianos y protozoarios se presentaron en los momentos gestacionales esperables para cada agente. A su vez, entre los casos recibidos, se observó predominio de causas de aborto bacterianas/protozoarias y de muerte perinatal de causa no infecciosa/parasitaria. Estos datos estarían en concordancia con otro trabajo que sugiere que, predominantemente, los abortos suelen ocurrir por causas infecciosas y las muertes perinatales por causas no infecciosas (Robles y Olaechea 2001).

Se conoce que el peso al nacer en gestaciones simples es mayor en corderos machos, sin embargo, en gestaciones gemelares las diferencias de peso debidas al sexo representan la mitad de lo que se esperaría respecto de partos simples (Macedo *et al.*, 2010; Lynch *et al.*, 2018). Nosotros detectamos asociación entre momento de la muerte y sexo, sin embargo, cuando evaluamos el efecto del peso y el sexo de los individuos no hallamos diferencias significativas por lo que se descartó la relación con el peso. Varios autores han indicado que los corderos machos presentan una mayor tasa de mortalidad debido a que tienden a alejarse de su madre, lo que los vuelve más susceptibles a accidentes o depredadores (Southey *et al.*, 2004; Turkson y Sualisu, 2005; Guilhem *et al.*, 2006; Mandal *et al.*, 2007; Sawalha *et al.*, 2007). No existen reportes que asocien esta mayor mortalidad a alteraciones genéticas ligadas al sexo. Nosotros no pudimos determinar otros factores de riesgo asociados al mayor número de fetos hembras y muerte perinatal de machos entre los casos recibidos, tampoco se pudo conocer si las muestras recibidas pertenecieron a partos simples o múltiples, por lo que se requieren más trabajos de investigación al respecto para determinar si efectivamente existe asociación o solo se trató de un hallazgo fortuito o incidental. En la tesis también se evaluó el peso y sexo de los fetos en relación con el período gestacional, hallándose diferencias significativas en el caso de las hembras de 2° y 3° período, y no así el macho. En este sentido dichas diferencias observadas podrían estar asociadas a la edad gestacional aproximada, que en el caso de las hembras analizadas del 2° período era de entre 60-80 días de gestación, en contraste con hembras de 3° período (> 110-140 días). En el caso del feto macho de 2° período, su

edad gestacional aproximada fue de 100-110 días que en contraste con ejemplares de 3° período (> 110-140 días) posiblemente haya sido el motivo por el cual no se hallaron diferencias significativas, ya que las diferencias etarias en este último caso eran más cortas. Por lo tanto, las diferencias observadas en las hembras posiblemente se haya debido a que las de 2° período permanecieron menor tiempo en el útero materno, en contraste con el macho del mismo período. Por otro lado, cuando se analizó el peso de los fetos teniendo en cuenta su sexo (machos o hembras) y evaluando los dos períodos gestacionales, no se observaron diferencias significativas que pudieran asociar el peso a una mayor presentación de abortos de hembras que de machos. Sin embargo, al analizar el peso de fetos hembra y machos en conjunto contrastándolo con los dos períodos gestacionales se observaron diferencias significativas las cuales podrían estar dadas a causa de que en el tercer período la ganancia de peso fetal es más importante. Según Mellor (1987), en el último tercio de la gestación es cuando el crecimiento del feto y de los anexos fetales adquieren una especial importancia, teniendo lugar al mismo tiempo el desarrollo de la estructura mamaria.

Las causas de muerte perinatal bacteriana más frecuentes fueron las producidas por enterobacterias como *E. coli* y *Providencia* sp. Estos hallazgos coinciden con trabajos realizados por Holmøy *et al.* (2016), quienes reportan a las enterobacterias como los principales agentes bacterianos generadores de pérdidas. En este sentido, la privación o retraso en el consumo de calostro del recién nacido dada por la separación de la madre, competencia entre hermanos, debilidad, mala atención materna o agalaxia pueden ser factores decisivos a la hora de la supervivencia del neonato. Esto, sumado a la exposición de bacterias patógenas oportunistas como *E. coli* o *Providencia* sp., las cuales pueden ingresar por vía umbilical u oral ya sea al momento del parto o poco tiempo después a causa de pezones o ubre contaminados, lo que puede provocar la enfermedad y muerte de corderos inmunocomprometidos (Hodgson, King, Hay *et al.*, 1989; Hodgson, King, Moon *et al.*, 1989; Irazoqui *et al.*, 1992; Hodgson, 1993; Sharma *et al.*, 2017). Según Mandal *et al.* (2007), en corderos recién nacidos, la falta de ingestión el calostro aumentó la susceptibilidad a infecciones bacterianas, particularmente del grupo coliformes. Esto podría deberse a que en corderos recién nacidos el abomaso posee un pH relativamente neutral y el intestino tiene la motilidad reducida, lo que permite la supervivencia y el crecimiento de bacterias ingeridas del medio ambiente, especialmente en ausencia de calostro, ocasionando bacteriemia, infección sistémica y meningitis (Wang *et al.*, 2014). A su

vez, en el caso de infección por *E. coli* se presentan como factores de riesgo para contraer la infección factores ambientales, de manejo, mayor tamaño de la camada, el menor peso de los corderos, ser corderos nacidos de ovejas con mala condición corporal o de ovejas de 1 o 5 años (Collins *et al.*, 1985; Eales *et al.*, 1985; Eales *et al.*, 1986; King y Hodgson, 1991; Leek, 1993). En los casos analizados se observó la enfermedad denominada síndrome de boca acuosa, cuya causa y etiopatogenia se desconoce, aunque se ha asociado a bacteriemias neonatales por varias bacterias mayormente oportunistas, entre las cuales se incluye *E. coli* (Angell y Duncan, 2020). Según Gilmour *et al.* (1985) la motilidad intestinal reducida también es una característica temprana importante. La enfermedad se caracteriza clínicamente por salivación profusa, letargo, falta de voluntad para buscar el pezón y succionar, aumento de la distensión abdominal, meconio retenido, inanición e hipotermia (Collins *et al.*, 1985, Hodgson, King, Hay *et al.*, 1989). Si bien en 2/5 corderos infectados por *E. coli* en esta tesis se observó materia fecal adherida a la zona perianal y base de cola (indicativo de diarrea), en los otros 3 corderos esto no fue observado. Esta situación fue descrita por Riet-Correa *et al.* (2011) que observaron que algunos animales infectados mostraban depresión, dejaban de mamar y morían antes de presentar diarrea. Estas situaciones posiblemente se presentaron en estos corderos, lo que llevó a depleción de sus reservas grasas. En los casos aquí presentados, 2 corderos manifestaron enteritis necrotizante mixta. Las lesiones histológicas halladas en otros tejidos de corderos muertos y que atribuimos a enterobacterias fueron inespecíficas, algunas de las cuales han sido descritas ocasionalmente en casos de síndrome de boca acuosa (Angell y Duncan, 2020). Dado que en el presente trabajo las lesiones histológicas halladas en los tejidos fueron también no supurativas, la ocurrencia de comorbilidades no evaluadas en este estudio no puede ser descartada en estos casos. A pesar de que no fue uno de los objetivos de este estudio, podría ser interesante evaluar la constelación de genes codificantes de factores virulencia en los aislados de *E. coli* de estos corderos, a fin de eventualmente determinar su patotipo (Ghanbarpour *et al.*, 2017).

También, se identificó *Providencia* sp. por medio de su aislamiento en pureza de pulmón e hígado en un cordero. A pesar de aislarse en pureza al agente a partir del hígado, no se observaron lesiones histológicas en dicho tejido. Además de neumonía intersticial no supurativa moderada, el cordero presentaba enteritis necrotizante mixta leve a moderada, y lesiones no supurativas leves en múltiples tejidos, incluyendo el encéfalo, corazón, riñón y músculo estriado. Estas lesiones fueron atribuidas a

*Providencia* sp. con fines clasificatorios en esta tesis, pero no se realizaron cultivos bacterianos de estas muestras (a excepción de pulmón e hígado) ni se apreciaron bacterias intralesionales en la histología, por lo cual la ocurrencia de comorbilidades no investigadas en esta tesis no puede descartarse.

En el presente trabajo se confirmaron problemas de mastitis en 15 ovejas de una majada de 1114 hembras (1,3%) durante el año 2019 (datos no mostrados), lo que pudo haber generado un calostro deficiente tanto en calidad como en cantidad, con consecuente estrés en los corderos y reducción de las defensas inmunitarias, predisponiendo al ingreso de *E. coli* y *Providencia* sp. por vía oral y desarrollando la enfermedad en los primeros 3 días de vida. A su vez, los corderos analizados en este trabajo, en los que posteriormente se diagnosticaron como infecciones por enterobacterias, presentaron restos de tierra en la boca y ausencia de contenido abomasal, lo que sugiere que no habían ingerido calostro/leche en las últimas horas de vida, y que la fuente de infección pudo haber sido ambiental, por ejemplo la ingestión de tierra.

Otra de las bacterias detectadas como causal de abortos y muerte perinatal en este estudio fue *Leptospira* spp. Este agente se presenta en áreas con climas tropicales y templados en entornos tanto urbanos como rurales. Sin embargo, la presentación de la enfermedad es más frecuente en climas tropicales, que brindan las condiciones ideales para su supervivencia (Wasiński y Dutkiewicz, 2013; Ellis, 2015; Dos Santos *et al.*, 2017). En este estudio el agente fue detectado en especímenes remitidos por establecimientos ubicados en la provincia de Buenos Aires, principalmente de sistemas extensivos en los cuales las ovejas se crían junto con el ganado bovino (2/3 establecimientos), en los que la ocurrencia de leptospirosis sería común (Ellis, 1994). En este sentido Ellis *et al.* (1983) y Leon-Vizcaino *et al.*, (1987) sugirieron la acción en otros continentes de *Leptospira* spp. de los serogrupos Pomona, Grippotyphosa y Sejroe (serovar Hardjo) como responsables de algunos abortos en ovinos, serogrupos que también son compartidos por bovinos. En el presente trabajo se utilizó una PCR en tiempo real la cual según la OIE (2018b) permite detectar el género *Leptospira* spp., sin embargo, dicha PCR no permite identificar las especies actuantes, por este motivo y al no haber realizado la técnica de MAT en los líquidos de cavidad de los fetos y el cordero diagnosticados con leptospirosis, no fue posible realizar una mayor aproximación diagnóstica a la especie y serogrupo actuante. También es importante destacar que en 2 fetos no se identificó *Leptospira* spp. por medio de IFD, por lo que posiblemente la presencia del agente haya sido escasa en estos tejidos fetales, lo que

posteriormente influyó en el resultado, ya que esta prueba diagnóstica es dependiente del número de agentes y del estado de conservación de los tejidos (OIE, 2018b). En este punto surge el interrogante de si la PCR utilizada, cuyo ADN blanco no es específico de leptospiras patógenas, podría haber determinado la identificación de leptospiras no patógenas, sobreestimado la frecuencia de detección de casos identificados como leptospirosis. Sin embargo, el hecho de haber identificado al agente en órganos fetales y detectado lesiones histológicas podría indicar que las leptospiras halladas eran patógenas. Además, en los 4 casos diagnosticados se hallaron lesiones histológicas coincidentes con las reportadas por Cantón *et al.* (2015) en fetos bovinos abortados y por Almeida *et al.* (2019) en ovinos adultos asintomáticos crónicamente infectados, en los que la histología reveló infiltrado inflamatorio intersticial no supurativo multifocal de leve a moderado en riñón (Almeida *et al.*, 2019), sumado a otro tipo de lesiones no supurativas en pulmón, hígado y meninges (Cantón *et al.*, 2015). Si bien las lesiones halladas en el presente estudio fueron inespecíficas, la identificación del agente por dos métodos diagnósticos en dos casos sumado a la confirmación de la presentación de la enfermedad dos años consecutivos en un establecimiento, podrían indicar que las pérdidas fueron producto de este agente infeccioso. Analizar estas mismas muestras mediante una PCR que tenga como blanco al gen *lipL32* de *Leptospira* podría proveer más información respecto del agente involucrado en estos casos, ya que las leptospiras portadoras de este gen son consideradas patógenas o de patogenicidad intermedia, mientras que este gen no está presente en especies consideradas saprófitas (Miotto *et al.*, 2018).

La leptospirosis es una enfermedad desatendida y de efectos subestimados (Martins *et al.*, 2012b). En rumiantes, se puede presentar de forma subclínica (Ellis, 1994; Martins *et al.*, 2012a). Sin embargo, en su presentación crónica genera problemas reproductivos. En este sentido, las ovejas pueden actuar como reservorios de estas espiroquetas representando una amenaza potencial para la salud humana y otros animales causando importantes pérdidas económicas (Cousins *et al.*, 1989; Ellis, 1994; Gerritsen *et al.*, 1994; Silva *et al.*, 2007; Lilenbaum *et al.*, 2008; Pappas *et al.*, 2008; Lilenbaum *et al.*, 2009). La infección por el serovar Hardjo sería endémica y menos dependiente de los factores ambientales (De Carvalho *et al.*, 2014; Martins y Lilenbaum 2014; Cortizo *et al.*, 2015). Sin embargo, los serovares incidentales, como Icterohaemorrhagiae, generalmente producen brotes epidémicos y son dependientes de factores ambientales (Adler y De la Peña Moctezuma, 2010; Suepaul *et al.*, 2011; Martins *et al.*, 2012a). La enfermedad grave a menudo se asocia con serovares



incidentales, principalmente Pomona, Ballum, Icterohaemorrhagiae o Grippotyphosa (Leon-Vizcaino *et al.*, 1987; Vermunt *et al.*, 1994). En Uruguay el serovar Kennewicki del serogrupo Pomona también fue asociado a leptospirosis aguda en ovinos (Hamond *et al.*, 2019). Si bien en el presente trabajo no se determinó el serovar actuante, en general los abortos se presentaron como brotes epidémicos (datos no mostrados). A su vez, en las muestras examinadas, la nefritis intersticial leve a moderada fue común en todos los ejemplares, pudiendo asociar estas lesiones a la infección por *Leptospira* spp. (De Carvalho *et al.*, 2011; Almeida *et al.*, 2019).

En otro orden de hallazgos, se detectaron muertes por cuadros respiratorios ocasionados por *T. pyogenes* y *M. haemolytica*. Trabajos realizados por Besser *et al.* (2013) y Martínez *et al.* (2019) indican que, si bien la enfermedad respiratoria afecta a ovinos de todas las categorías, los animales jóvenes son los más susceptibles. A su vez, en sistemas de producción extensivos en los que las condiciones ambientales no son controladas y donde se asocian a factores climáticos estresantes tales como frío o lluvia, se produce la mayor cantidad de muertes por enfermedades respiratorias (Brogden *et al.*, 1998; Nava-López *et al.*, 2006; Radostits *et al.*, 2006; Bell, 2008; Macedo *et al.*, 2010; Caswell y Williams, 2016). En el presente trabajo las muertes ocurrieron durante los primeros días de vida, y aunque esto no fue evaluado, pudieron haber estado asociadas a factores concomitantes como cambios bruscos en la temperatura, mal calostrado, presencia de virus respiratorios, lluvias o falta de refugios. Donachie (2001) indicó que los brotes en el rebaño comienzan habitualmente con muertes repentinas, con frecuencia en corderos jóvenes en los que la enfermedad es sobreaguda y septicémica. En el presente trabajo los animales diagnosticados con *T. pyogenes* y *M. haemolytica* también tuvieron anticuerpos contra agentes protozoarios, sin embargo, en base a los hallazgos de necropsia, aislamientos realizados y lesiones histológicas observadas se determinó que las muertes fueron producto de la bronconeumonía. También es importante destacar que los 3 corderos presentaron atrofia del tejido adiposo, este hallazgo podría indicar que luego de contraer la enfermedad los corderos no se alimentaron adecuadamente agravando la situación. Según Fernández *et al.* (2016) la concentración en la cual se encuentran estos patógenos en el tejido es directamente proporcional al daño que ocasionan. En el presente trabajo se aislaron ambos patógenos, observándose lesiones macroscópicas y microscópicas características de la enfermedad, las cuales fueron previamente reportadas por varios autores (Cutlip *et al.*, 1996; Brogden *et al.*, 1998; Farias *et al.*, 2013). Por otro lado, *M. haemolytica* puede producir no solo cuadros respiratorios sino

también mastitis en hembras lactantes, pudiendo producirse el contagio a los corderos a través de las ubres (Farias *et al.*, 2013). Sin embargo, si las circunstancias son favorables, los corderos también pueden conducir a la transmisión de *M. haemolytica* a la glándula mamaria causando mastitis en sus madres (Fragkou *et al.*, 2011). Si bien en las madres de los corderos analizados no se reportaron problemas de mastitis, esta afección debería tenerse en cuenta ya que podría producir una inadecuada lactación del cordero ocasionando estrés y predisponiendo a otras enfermedades. En nuestro estudio las neumonías representaron el 10,3% (3/29) de las causas de muerte bacterianas/protozoarias, lo que indica que es una patología que podría presentarse con relativa frecuencia.

Otro de los agentes bacterianos asociados a un caso de aborto a término fue *L. ivanovii*. Esta bacteria puede producir abortos en el último período de la gestación y nacimiento de corderos débiles (Sergeant *et al.*, 1991; Low y Donachie, 1997). Existen reportes que indican su aislamiento de ensilaje en mal estado (Rawool *et al.*, 2007), si bien en el presente trabajo no se logró aislarla de dicho alimento, esto no necesariamente descarta que esta haya sido una posible fuente de infección en la majada. En el feto analizado se observaron lesiones histológicas características de las provocadas por infecciones bacterianas, que fueron confirmadas por el aislamiento de *L. ivanovii*. Cuando se aplicó la técnica de IHQ sobre los tejidos fetales, se empleó un anticuerpo policlonal desarrollado contra *L. monocytogenes*. Esto indicaría que el anticuerpo usado daría reacción cruzada no específica con *L. ivanovii*, hallazgo que no ha sido previamente reportado para este anticuerpo comercialmente disponible. Este hallazgo es interesante, razón por la cual debería ser evaluado en futuros ensayos, para evitar resultados confusos al respecto. Por otro lado, si bien *L. ivanovii* causa septicemia con enteritis y aborto, no han sido documentadas lesiones en las meninges y el encéfalo en casos espontáneos (Ivanov, 1962; Vázquez-Boland *et al.*, 2001; Sahin y Beytut, 2006). Sin embargo, Asrani, (2000) detectó microabscesos en el cerebro de fetos de cobayos experimentalmente infectados con *L. ivanovii*. Las lesiones observadas en las meninges del feto aquí analizado pudieron deberse a una septicemia por esta bacteria. Si bien *L. ivanovii* es un agente hallado en baja frecuencia, es importante tenerlo en cuenta como posible agente causal de pérdidas en las majadas de nuestro país. El mismo caso de aborto por *L. ivanovii* diagnosticado en esta tesis ha sido recientemente reportado por nuestro grupo de investigación (Della Rosa *et al.*, 2019).

Otro agente identificado en uno de los fetos analizados fue *C. jejuni*, bacteria que produce abortos generalmente en el último período de la gestación (Hedstrom *et al.*, 1987; Skirrow, 1994). En este caso, el feto recibido correspondió al final del segundo período de gestación. El diagnóstico se realizó en base al aislamiento bacteriológico a partir de la placenta. Los aislamientos de bacterias habitantes normales del tracto gastrointestinal a partir de este tejido, particularmente cuando la muestra se encuentra contaminada con materia fecal como en el caso aquí descrito, siempre plantean el interrogante respecto de posibles contaminaciones, sobre todo si el agente, como en este caso, no es aislado además de algún órgano o líquido abomasal fetal. El hecho de observar una gran preponderancia de esta bacteria por sobre otras en los cultivos bacterianos (situación no frecuente en placentas ovinas) y a su vez la presencia de lesiones histológicas de tipo supurativas en la placenta tal como las reportadas por Hedstrom *et al.* (1987) y Sanad *et al.* (2014), sugiere que *C. jejuni* pudo haber sido responsable del aborto en este caso, lo cual consideramos más probable que la contaminación postaborto. Otras técnicas que hubieran permitido identificar al agente intralesionalmente en la placenta, tales como coloraciones argénticas o inmunohistoquímica, no fueron realizadas en este caso. También se hallaron lesiones de tipo no supurativas en pulmón, corazón e intestino, si bien dichas lesiones son inespecíficas, hay autores como Hedstrom *et al.* (1987) que reportaron la falta de lesiones en órganos fetales producto de abortos naturales y experimentales por *C. jejuni*. En este sentido Miller y Quinn (1975), indicaron que el sitio de injuria en fetos bovinos no solo está influido por la vía de entrada de los agentes infecciosos, sino también por otros factores como la etapa del desarrollo embrionario y la inmunidad fetal al momento de la exposición. Por su parte, Hedstrom *et al.* (1987) y Burrough *et al.* (2009) determinaron que grandes cantidades de *C. jejuni* son recuperados principalmente de tejidos placentarios y uterinos, mientras que cantidades menores son detectadas en heces y sangre, así como de muestras fetales y líquido de abomaso. Por este motivo, en ocasiones este agente podría no ser aislado de tejidos fetales e incluso no observarse lesiones histológicas compatibles con dicha infección. La posibilidad de acceder al tejido placentario en este caso permitió arribar al diagnóstico etiológico, lo que remarca la importancia de concientizar a los veterinarios y productores para que envíen esta muestra para ampliar las posibilidades diagnósticas en caso de abortos. En futuras instancias, podría ser interesante evaluar la susceptibilidad a antibióticos de la cepa de *C. jejuni* aislada de este caso, dado que

se ha descrito un clon emergente resistente a tetraciclinas como causal de abortos en ovinos de Norteamérica (Sahin *et al.*, 2008).

Los abortos y muertes perinatales asociados a protozoos apicomplejos (*T. gondii* y *N. caninum*) abarcaron el 48,2% (14/29) dentro de las causas de muerte bacterianas/protozoarias diagnosticadas en el presente trabajo, por lo que se puede observar la importancia de dichos agentes como generadores de pérdidas. Respecto de los abortos, los protozoarios en conjunto representaron la principal causa identificada (8 de los 27 fetos analizados, y 8 de los 13 fetos con causas bacterianas/protozoarias). A nivel mundial *T. gondii* es una de las causas más comunes de aborto en ovinos. La importancia económica, clínica y epidemiológica de la infección por *N. caninum* en ovejas permanece en estudio (Dubey, 2009; Dubey y Shares, 2011; Dubey *et al.*, 2017), aunque la información publicada hasta el momento indica que sería un abortigénico menos frecuente que *T. gondii* en esta especie.

Los abortos por protozoos en ovejas se asocian tradicionalmente con *T. gondii*, que causa lesiones necróticas e inflamatorias; lesiones similares son causadas por *N. caninum* (Moreno *et al.*, 2012). A su vez, ambos agentes pueden causar muerte fetal, momificación, aborto y mortinatos dependiendo de la inmunidad, la etapa de la gestación y el momento en el que se produce la infección (Buxton, 1998; Weissmann, 2003; Dubey *et al.*, 2007; Dubey, 2009; Dubey *et al.*, 2017). Las lesiones histológicas observadas en este trabajo se corresponden con los hallazgos reportados anteriormente por Hecker *et al.* (2019), aunque cabe destacarse que el caso publicado por Hecker *et al.* (2019), que fue diagnosticado en el año 2017 no está incluido en esta tesis, que incluye casos adicionales diagnosticados en los años 2018 y 2019.

Munday y Dubey (1986) establecen que las pruebas serológicas son una herramienta de diagnóstico importante, pero deben interpretarse adecuadamente. En el presente estudio se realizó IFI a partir de líquidos de cavidad de fetos y corderos; en los fetos la presencia de anticuerpos es atribuible a infección intrauterina, sin embargo, en los corderos la seropositividad no necesariamente indicaría exposición al protozoario, sino que podría deberse a inmunidad pasiva calostrada. En base a los resultados obtenidos por IFI, PCR e histopatología conjuntamente, los agentes protozoarios fueron asociados a las pérdidas ocasionadas. Por otra parte, Sarkari *et al.* (2013) determinaron que la presencia o ausencia de quistes en los animales afectados podría deberse a una mayor o menor cantidad de parásitos. Si bien en el presente estudio, solo fue observado un feto con quistes de protozoarios, las pérdidas de los casos restantes fueron confirmadas mediante los análisis correspondientes,

descartando agentes bacterianos. Si bien no fueron cuantificados los niveles de infección, en todos los especímenes se observaron lesiones moderadas a severas en varios órganos.

Otro hallazgo interesante en este trabajo fue la presencia de malformaciones congénitas en 1 feto y 1 cordero. En relación con éstas es necesario tener en cuenta varios factores, tales como la presencia de plantas con potencial teratogénico, otras sustancias tóxicas (fármacos, agroquímicos, etc.), la endogamia en la majada, factores genéticos e infecciones intrauterinas con patógenos teratogénicos (Dantas *et al.*, 2010; Bartolomé *et al.*, 2013; Toufaily *et al.*, 2018), aunque muchas malformaciones fetales pueden ocurrir esporádicamente, sin identificarse una causa específica (Dantas *et al.*, 2010). Consideramos que las malformaciones determinadas en el presente trabajo fueron hallazgos fortuitos o incidentales. Una de las malformaciones (feto) ocurrió en una majada que según la anamnesis había pastoreado potreros con *C. maculatum*. Esta planta es potencialmente tóxica al ser consumida entre los 30 y 60 días de gestación pudiendo generar malformaciones congénitas esqueléticas (Panter *et al.*, 1988). En este sentido, Gázquez Ortiz (1991) indicó que *C. maculatum* produce defectos a nivel de las extremidades, rotación de los miembros, flexión permanente del carpo, así como labio y paladar hendidos. Por otro lado, en el caso del cordero con anoftalmia unilateral y queilosquisis, no pudo sospecharse de ninguna causa, en base a la anamnesis del caso. Existen reportes que asocian la anoftalmia y queilosquisis con alteraciones genéticas, consanguinidad o carencia de vitamina A (Khodakaram-Tafti y Ikede, 2005; Cárdenas Herrera, 2014). En este sentido Dennis (1975) indicó que los defectos individuales varían según la raza, el área geográfica, año, sexo, edad, nutrición y medio ambiente donde se encuentran los padres. En este caso mediante la anamnesis y datos epidemiológicos no se sospechó de plantas potencialmente tóxicas, sin embargo, las alteraciones genéticas o carenciales no pudieron ser descartadas. A su vez, ambos ejemplares malformados fueron diagnosticados con infección por protozoos apicomplejos, los cuales fueron establecidos como los causales de las pérdidas, sin embargo, consideramos que es probable que estos protozoarios no hayan tenido una asociación causal con las malformaciones observadas.

A pesar de que en el presente estudio se evaluaron 27 fetos y 31 corderos con muertes perinatales pertenecientes a una región geográfica norte-centro del país, no se logró detectar *C. abortus* en ninguno de los 58 casos evaluados. El hecho de que solamente la placenta de 9 fetos pudo ser analizada y siendo este material

considerado de elección para el diagnóstico de aborto por *Chlamydia* (Longbottom y Coulter, 2003), pudo haber influido en la posibilidad de realizar este diagnóstico. En los sistemas de cría de tipo extensivo es difícil encontrar este tejido que muchas veces es consumido por la misma oveja luego del parto/aborto o por animales carroñeros. Sin embargo, a pesar de no haber detectado material genético (PCR) ni antígeno (IFD) de *C. abortus*, existe evidencia serológica de la presencia de *Chlamydia* spp. en las majadas evaluadas. Recientemente Rojas *et al.* (2018) detectaron ADN de *Chlamydiaceae* en muestras de 12/251 fetos bovinos (4,78%) en la provincia de La Pampa. También, Di Paolo *et al.* (2019) confirmaron la presencia de *C. abortus* en la provincia de Mendoza, mediante la amplificación de su ADN en 5 abortos caprinos (1,99%). Sin embargo, a pesar de la reciente detección de material genético de este patógeno en otras especies, hasta el momento no ha habido informes de AEO en el país.

En otro orden de cosas, y en relación con las causas no infecciosas de muerte perinatal, se considera que la exposición a condiciones climáticas adversas y la ingesta insuficiente de calostro tanto en cantidad como en calidad son factores de riesgo importantes. En el presente trabajo el estrés-inanición-hipotermia fueron considerados las principales causas de muerte perinatal, tal como ha sido descrito por otros autores. Olaechea *et al.* (1983) determinaron un porcentaje similar al encontrado en este trabajo, seguido por las distocias en un 10%. En Colombia, Basto Carvajal (2016) indicó que la mortalidad postparto se relaciona con corderos débiles, pobre nexo madre-cordero, falta de producción de calostro o leche por parte de la hembra, enfermedad de la boca acuosa y maduración pulmonar limitada. Coincidiendo con lo establecido por esos autores, en el presente estudio el mayor número de muertes por causas no infecciosas fueron atribuidas al síndrome estrés-inanición-hipotermia, siendo posiblemente multifactorial. Trabajos realizados por Campero *et al.* (1993) y Macedo *et al.* (2010) indicaron que las mayores tasas de mortalidad se presentaron en sistemas de producción extensivos; siendo la principal causa el síndrome de estrés-inanición-hipotermia dados por la baja condición corporal de las hembras al parto. Este síndrome también puede darse debido a una mayor lentitud del cordero para incorporarse y alimentarse luego del parto, lo cual incrementa el riesgo de muerte por estrés-inanición-hipotermia (Dwyer, 2003). Estas situaciones pueden presentarse por una mayor duración y dificultad durante el parto (Cloete *et al.*, 2002). En el presente trabajo, solo en 2/11 corderos con este síndrome se determinó que el peso corporal (2,5 y 2,6 kg) se encontraba por debajo del rango establecido como

normal para la raza Ideal a la que pertenecían (Fernández Abella *et al.*, 2017), sumado a una condición corporal de las hembras de 1 y 1,5. Esta baja condición corporal podría explicar el bajo peso al nacimiento de los corderos, sumado a que posiblemente la producción de calostro haya sido deficiente tanto en calidad como en cantidad. En este sentido, estudios realizados por Mandal *et al.* (2007) indican que, en sistemas semi-intensivos y extensivos, la baja condición corporal de la madre es responsable de una mayor mortalidad perinatal. Por su parte Teófilo (2002) determinó que siempre que la condición corporal sea óptima (2,5-3) el mayor índice de supervivencia de corderos se obtiene con ovejas de 3 a 5 años en las que la producción de calostro es máxima. Por otra parte, también es posible que los 2 corderos del presente estudio hayan nacido bajo condiciones climáticas adversas, lo que podría haber contribuido a la muerte de estos ejemplares. En relación con los hallazgos obtenidos en los 11 corderos diagnosticados con el síndrome estrés-inanición-hipotermia se observó atrofia o ausencia de tejido adiposo y ausencia de leche/calostro en la luz abomasal, lo que podría sugerir abandono materno. Además, al provenir de sistemas productivos extensivos no se pudo conocer si correspondieron a partos simples o múltiples de borregas u ovejas adultas, tampoco la duración del parto o alteraciones durante el mismo, situaciones que podrían haber influido en la posterior vinculación madre-cordero. También es importante destacar que posiblemente algunos corderos, al no haber recibido calostro en cantidad y calidad suficientes durante las primeras horas de vida, podrían haberse visto predispuestos a sufrir septicemias por *E. coli* y otros agentes oportunistas como *Providencia* sp. Según Dutra *et al.* (2007) durante el parto se pueden producir lesiones de encefalopatía hipóxico-isquémica. Las lesiones más severas son causa inmediata de muerte de los corderos, mientras que las lesiones más leves impiden mamar y/o alteran su capacidad de supervivencia y adaptación al medio. Se cree que estas lesiones son resultado de la asfixia y trauma al sistema nervioso central producidos durante el parto. A su vez, debido a la anatomía del cuello de los corderos, existiría predisposición a desarrollar lesiones isquémicas al momento del parto. Todo esto genera una baja vitalidad que predispone a una mala succión (Holmøy *et al.*, 2016). En el presente trabajo en los ejemplares diagnosticados con el síndrome estrés-inanición-hipotermia no se observaron lesiones histológicas de tipo hipóxico-isquémicas en el encéfalo, por lo que posiblemente esta no haya sido la causa de un eventual consumo tardío o insuficiente de calostro.

La sobrevivencia del cordero depende de su peso al nacer, el cual es afectado por múltiples factores, entre ellos la raza, la nutrición de la madre durante la gestación, el

genotipo de los padres, el tipo de nacimiento, el sexo, la edad de la madre al parto y la duración del período de gestación (Simonetti *et al.*, 2009; Fernández Abella *et al.*, 2017). Los corderos con mayor peso poseen más reservas energéticas para contrarrestar pérdidas de temperatura corporal, tienen mayor vigor, y demoran menos tiempo para incorporarse, mamando precozmente el calostro, todo lo cual contribuye a una mayor tasa de supervivencia. Mientras que los corderos más pequeños son los que mayor cantidad de calor pierden, pues tienen una mayor relación área/peso corporal (Stephenson *et al.*, 2001). Sin embargo, existe una relación entre el peso al nacer del cordero y la mortalidad neonatal, registrándose mayores pérdidas cuando dichos pesos son muy bajos o muy altos, y menores cuando son intermedios. El crecimiento intrauterino retardado por insuficiencia placentaria o restricción de la nutrición en la madre gestante, con el consecuente nacimiento de un cordero muy liviano, afecta también la conducta del neonato a través de procesos del neurodesarrollo y/o de su maduración física. Sin embargo, el elevado peso al nacer también estaría asociado a un retardo para pararse, encontrar la ubre y mamar (Nowak y Poindron 2006; Mellor y Hodgson 2007; Simonetti *et al.*, 2009). También es importante tener en cuenta la duración de los partos, ya que aquellos prolongados han sido asociados con un aumento en el número de muertes durante y luego del mismo (Séller, 1970). A su vez, los partos prolongados llevan a una demora de la madre en ponerse de pie, lo cual altera el establecimiento del vínculo retrasando o impidiendo el éxito de mamado, llegando incluso a ocasionar el abandono de la cría (Alexander, 1988; Dwyer y Lawrence, 1999). En el caso de las borregas, en general tienen partos más prolongados y/o dificultosos en comparación con ovejas múltiparas, esto predispone a un menor vigor de sus corderos durante la primera hora de vida, lo que puede tener consecuencias sobre la supervivencia (Zamit Suárez y López Correa, 2009). En el presente trabajo se pudo recopilar información anamnésica que indicaba que la condición corporal de algunas hembras que habían parido corderos que fueron remitidos para diagnóstico de muerte perinatal era baja (datos no mostrados), sumado a un bajo peso vivo de sus corderos al momento de realizar las necropsias. Estas situaciones posiblemente hayan estado dadas por una alimentación deficiente en el último período de gestación, generando corderos de bajo peso al nacer. En el presente análisis, a pesar de conocer el estado corporal de las madres, no se pudo saber si los corderos correspondieron a partos simples o múltiples, situación que podría explicar también el bajo peso de los corderos. Finalmente, cualquiera haya sido la situación del parto, la baja condición corporal de la madre también habría podido llevar a una pobre



relación madre-cordero o incluso abandono de la cría, o a una inadecuada producción de calostro, no permitiendo cubrir los requerimientos de los corderos. En este sentido, según lo establecido por Banchemo *et al.* (2007) la producción de calostro varía según la raza, la nutrición preparto y el tipo de parto. La subalimentación de la madre durante una gestación avanzada puede inducir fallas de sincronización entre el parto y el comienzo de la lactancia, o resultar en un pobre desarrollo de la ubre, en cuyo caso el calostro y la leche producidos pueden ser insuficientes. Además, la subalimentación, la edad de las borregas y la duración prolongada del parto pueden generar falta de reconocimiento y atención de la cría durante las primeras horas de vida, lo que finalmente repercute en su sobrevivencia (Alexander, 1988; Olazábal Fenochio *et al.*, 2013). En el presente estudio, si bien no se pudo constatar la producción de calostro, en todos los corderos diagnosticados con estrés-inanición-hipotermia se observó atrofia o ausencia del tejido adiposo pericárdico y perirrenal, lo que indicaría que los corderos no recibieron alimento a pesar de haber vivido algunos días. Cabe considerar que la atrofia o depleción adiposa fue establecida como un criterio para diagnosticar los casos atribuidos a estrés-inanición-hipotermia.

Autores como Huffman *et al.* (1985), Mellor y Stafford (2004), Rad *et al.* (2011) y Kjelstrup *et al.* (2013) determinaron que los traumatismos también son causas importantes de muerte. A su vez, Holmøy *et al.* (2016) indicaron que la proporción de corderos que mueren por traumatismo es mayor en partos simples relacionado al mayor peso al nacimiento versus partos múltiples, cuyas principales lesiones son fracturas de costillas por partos distócicos. Si bien en el presente trabajo no se presentaron corderos con huesos fracturados, los casos clasificados como muerte perinatal traumática se correspondieron con una herida penetrante transmural en la cavidad abdominal (tal vez relacionada a depredación primaria o secundaria) y una ruptura intestinal, siendo ambas consideradas fatales. A su vez, en el cordero que presentó ruptura intestinal se observó peritonitis fibrinosa posiblemente por invasión bacteriana desde el intestino, en una instancia postrauma pero premortem. En este sentido es conocido que los traumatismos son causantes de la muerte de ovejas y corderos en el periparto (Scott y Gessert, 1996).

Las causas de distocias son asociadas a la presencia de malformaciones, desproporción del tamaño entre el feto y su madre, muerte fetal, gestaciones múltiples, dilatación cervical incompleta, torsión uterina y desplazamiento del útero gestante e inercia uterina (Sharma *et al.*, 2014). Lesiones isquémicas del sistema nervioso han sido corroboradas en corderos que mueren con otras lesiones sugestivas de distocia,

es decir, edema o hemorragia lingual y subcutánea (Lashley *et al.*, 2013). En el presente estudio los hallazgos macroscópicos en la necropsia (edema en la cabeza y cuello, cobertura de meconio en el manto lanar), acompañado de los resultados negativos de los análisis para detección de bacterias/protozoarios, y la histología, a través de la cual se observó presencia de meconio intra-alveolar sugirieron que los fetos habrían sufrido estrés fetal previo a la muerte (Miller, 1995). Además, las lesiones observadas en el presente trabajo (edema subcutáneo, ruptura de órganos) fueron coincidentes con las descritas por Kerlake *et al.* (2005) en distocias de fetos ovinos. Según Hawkins (2004), la muerte también puede deberse a un desequilibrio en la relación ventilación/perfusión y, en consecuencia, hipoxia fetal. A su vez, en un trabajo realizado por Rial *et al.* (2018) en una majada de la provincia de Buenos Aires, asociaron la hipomagnesemia como responsable de partos lánguidos con consecuente distocia. En el presente trabajo los ejemplares que murieron a causa de partos distócicos presentaron edema en la cabeza y miembros anteriores, lo que hace suponer que se encontraban bien presentados en el canal del parto, y tenían buen peso al nacimiento, lo que podría indicar que correspondían a gestaciones simples. Por lo que podemos especular que en estos casos el parto distócico pudo deberse a una desproporción feto-pélvica o a dilatación incompleta, o a partos lánguidos por deficiencia de minerales, sin embargo, la causa subyacente de la distocia no se identificó en ningún caso.

Todos los fetos cuya muerte fue atribuida a una distocia, y algunos de los corderos cuya muerte fue atribuida a síndrome estrés-inanición-hipotermia, presentaron meconio en los alvéolos pulmonares. Según Miller (1995), esto se podría deber a estrés fisiológico en el parto, causado por hipoxia debido a la compresión del cordón umbilical o debido a insuficiencia placentaria y agentes infecciosos, que pueden desencadenar la eliminación de meconio por el feto en la cavidad amniótica antes del parto y su posterior aspiración. Esto, sumado a otros indicios observados como hemorragias en las glándulas adrenales podrían indicar que los corderos analizados padecieron situaciones de estrés, las cuales podrían haber contribuido al desenlace presentado en cada caso particular, aunque esto permanece en el campo de la especulación.

Luego de los estudios realizados, 12 abortos y 2 muertes perinatales no pudieron ser diagnosticadas a nivel causal, quedando como casos de causa indeterminada. En este sentido, uno de los fetos analizados cuyos músculos macroscópicamente tenían aspecto atrófico y gelatinoso, e histológicamente presentaron lesiones no solo en

masas de músculos esqueléticos sino también en músculo cardiaco, no pudo determinarse la causa. Si bien una de las posibles condiciones consideradas para las lesiones observadas fue deficiencia de selenio y vitamina E, estos elementos no fueron analizados en muestras fetales en vistas de confirmar eventuales deficiencias. Una condición congénita hereditaria que puede determinar la ocurrencia de lesiones musculares distróficas similares a las apreciadas en este caso es la distrofia muscular progresiva congénita ovina (McGavin y Baynes 1969; Clayton *et al.*, 2020). También existe la posibilidad de que a causa de una subnutrición de la oveja se hayan presentado lesiones fetales. En este sentido Fahey *et al.* (2005) encontraron que las ovejas subnutridas al inicio de la gestación producen fetos/corderos con alteraciones musculares, las cuales se caracterizan por presentar un incremento en la cantidad de fibras lentas y una disminución en la cantidad de fibras rápidas. Osgerby *et al.* (2002) evaluaron el efecto de una restricción en la nutrición desde el día 26 al fin de la gestación y observaron que el músculo semitendinoso era más liviano. Un estudio realizado por Zhu *et al.* (2006) con ovejas sometidas a una restricción del 50% de sus requerimientos entre los días 28 y 78 de gestación, demostró una disminución del número y la composición de las fibras musculares el musculo *longissimus dorsi*. Costello *et al.* (2008) encontraron que ovejas subnutridas desde el día 1 al 31 de gestación, presentaban una disminución en la densidad capilar y el total de miofibras en el tríceps braquial fetal a los 127 días de gestación. En la tesis no evaluamos si las lesiones pudieron deberse a deficiencias vitamínico-minerales u otros nutrientes, a enfermedades hereditarias o a otras condiciones, por tal motivo el caso fue considerado como de causa indeterminada. A su vez, el feto presentó anticuerpos anti-*N. caninum* en el líquido de cavidad abdominal; sin embargo, este hallazgo no permite asociar a este parásito con algunas de las lesiones observadas en el feto, y por lo tanto como causal del aborto. La presencia de anticuerpos fetales solo indicaría que el feto entró en contacto con el protozoo durante el último tercio de la gestación, lo que generó la respuesta inmune por parte del feto inmunocompetente.

Es frecuente que haya imposibilidad de arribar a un diagnóstico etiológico en una proporción importante de casos, dada la enorme variedad de agentes abortigénicos infecciosos, parasitarios y no infecciosos para los cuales no se cuentan con metodologías de laboratorio confirmatorias. Sin embargo, esta clasificación podría hacer incurrir en cierto error al no haber contado en todos los casos con placenta y en ningún caso con suero materno lo que permite ampliar las posibilidades diagnósticas. Por lo que en casos en los que la lesión y el agente podrían haberse ubicado

únicamente en la placenta, el feto sería erróneamente clasificado como indeterminado. Por este motivo se enfatiza la importancia de la remisión tanto de la placenta como de suero materno en caso de ser posible, junto con el feto o cordero. Otro aspecto que pudo dificultar el diagnóstico fue la presencia de autólisis, como lo han indicado Buxton (1991) y Hurtado *et al.* (2001) quienes indican que la utilización de pruebas moleculares puede permitir amplificar con éxito el ADN de algunos patógenos, incluso en tejidos autolíticos, sin embargo, se debe ser cauto en interpretar estos resultados, ya que la sola detección de un agente en un feto abortado no es sinónimo de causalidad del aborto. A su vez, las pruebas inmunohistoquímicas pueden proporcionar un diagnóstico preciso aún con cambios autolíticos (Weissmann, 2003). Un grupo dentro de los fetos abortados y corderos del presente trabajo en los que no se pudo arribar al diagnóstico etiológico presentaron lesiones histológicas compatibles con la acción de algún agente infeccioso/protozooario, siendo el porcentaje de abortos indeterminados similar al reportado por Fernández *et al.* (2012). Las lesiones más frecuentes en estos especímenes se observaron en el pulmón. Como se comentó, la presencia de autólisis pudo influir negativamente en el diagnóstico, pero otra posibilidad muy probable es la acción de otros patógenos no investigados en este trabajo, e incluso de agentes no infecciosos. En este sentido, todas las muestras han sido conservadas para ampliar la investigación diagnóstica en el futuro.

En el presente trabajo se implementaron técnicas inmunodiagnósticas, patológicas, bacteriológicas y moleculares para determinar las causas de abortos y muertes perinatales en ovinos de diferentes regiones de Argentina, constituyendo al primer trabajo de este tipo en el país. Una de las principales limitantes del estudio es el reducido número de casos y establecimientos analizados, aunque teniendo en cuenta los sistemas productivos extensivos de donde se originaron las muestras, la cantidad no es despreciable. Se considera ampliar los estudios para lograr mayor representatividad. En este sentido, es imperante concientizar a los productores y veterinarios de la actividad privada e instituciones vinculadas a la salud animal de la importancia de arribar al diagnóstico de abortos y muertes perinatales, pérdidas que en muchas ocasiones son consideradas normales, en vistas de contar con elementos para definir estrategias preventivas y de control. Futuros trabajos deberán ser realizados para comprender la realidad de este problema en diferentes regiones del país e incluso poner a punto nuevas herramientas que permitan ampliar la búsqueda de agentes no evaluados en este trabajo.

## 7. CONCLUSIONES

Se logró determinar la seroprevalencia de *C. abortus* y *Leptospira* spp. en 8 tambos ovinos de la provincia de Buenos Aires. El punto de corte y especificidad del kit de ELISA para detección de anticuerpos contra *C. abortus* debería ser evaluado para determinar si bajo las condiciones de nuestro país los resultados son sobre-estimados y a su vez, descartar reacciones cruzadas con otras especies de *Chlamydia* como *C. pecorum*.

La asociación hallada con la raza debería ser mayormente analizada para poder establecer si efectivamente existe una asociación causal o si los hallazgos obtenidos se debieron a otros factores no analizados en la tesis.

La ausencia de seroreactores a *Leptospira* spp. al título 1/100 en todas las muestras de los 8 establecimientos analizados no es indicativo de ausencia del agente en la provincia de Buenos Aires. Tal es así que en algunos fetos y corderos necropsiados fue identificada *Leptospira* spp. como agente generador de pérdidas, lo que confirma su presencia en ovinos de dicha provincia. Estudios de seroprevalencia enfocados en las majadas con casos confirmados de leptospirosis podrían ser más informativos respecto de la seroprevalencia individual para este agente.

Mediante este estudio se logró realizar una aproximación diagnóstica de causas bacterianas, protozoarias y no infecciosas de aborto y muerte perinatal en ovinos de Argentina. Sin embargo, sería conveniente realizar más estudios para determinar si las pérdidas continúan presentando similar distribución cuando el número de muestras analizadas incrementa y/o identificar causas no identificadas hasta el momento.

Hay una amplia variedad de causas de aborto y muerte perinatal en ovinos, las cuales se pueden presentar en forma esporádica o epidémica, repercutiendo negativamente en la producción.

Las causas de aborto más frecuentemente diagnosticadas fueron las protozoarias, mientras que para las muertes perinatales las causas más frecuentes fueron no infecciosas, representadas principalmente por el síndrome estrés-inanición. A su vez, entre los casos analizados los abortos tuvieron más probabilidad de ser diagnosticados con una causa infecciosa/protozoaria que los corderos muertos en la etapa perinatal.

A pesar de los análisis realizados, no se logró la identificación de *C. abortus* a partir de los fetos/placentas ni corderos analizados, aunque la cantidad de casos incluidos es baja e involucra una escasa cantidad de establecimientos.

Considerando que el 15,5% (9/58) de los diagnósticos de abortos y muertes perinatales correspondieron a enfermedades zoonóticas (*Leptospira* spp., *C. jejuni*, *L. ivanovii*, *T. gondii*), se ratifica la importancia del monitoreo de estas pérdidas en ovinos en nuestro país, no sólo por el aspecto económico-productivo sino también por las implicancias que estas enfermedades pueden tener en la salud pública.

## 8. BIBLIOGRAFÍA

- ABABNEH, H.S.; ABABNEH, M.M.; HANANEH, W.M.; ALSHEYAB, F.M.; JAWASREH, K.I.; AL-GHARAIBEH, M.A.; ABABNEH, M.M. 2014. Molecular identification of chlamydial cause of abortion in small ruminants in Jordan. *Trop. Anim. Health Prod.* 46: 1407-1412.
- ACIK, M.N.; CETINKAYA, B. 2006. Heterogeneity of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* strains from healthy sheep. *Vet. Microbiol.* 115: 370-375.
- ACKERMANN, M.; BRODGEN, K. 2000. Response of the ruminant respiratory tract to *Mannheimia (Pasteurella) haemolytica*. *Microbes. Infect.* 2: 1079-1088.
- ADLER, B. 2015. History of leptospirosis and *Leptospira*. *Curr. Top. Microbiol. Immunol.* 387(1-9): 79-84.
- ADLER, B.; DE LA PENA MOCTEZUMA, A. 2010. *Leptospira* and leptospirosis. *Vet. Microbiol.* 140: 287-296.
- AIELLO, S.E.; MOSES, M.A. 2016. The Merck Veterinary Manual (11th ed). Merck and Co. pp. 588- 590.
- AITKEN, I.D. 2000. Chlamydial abortion. En: MARTIN, W.B.; AITKEN, I.D. (eds). *Diseases of Sheep*. 3th ed. Blackwell Scientific, Oxford, UK. pp. 81-86.
- AITKEN, I.D.; CLARKSON, M.J.; LINKLATER, K. 1990. Enzootic abortion of ewes. *Vet. Rec.* 126: 136-138.
- ALEXANDER, A.V.; WALKER, R.L.; JOHNSON, B.J.; CHARLTON, B.R.; WOODS, L.W. 1992. Bovine abortions attributable to *Listeria ivanovii*: four cases (1988-1990). *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 200:711-714.
- ALEXANDER, G. 1984. Constraints to lamb survival. In: Lindsay, D.R.; Pearce, D.T. (eds). *Reproduction in sheep*. Australian Academy of Science, Canberra. pp. 199-209.
- ALEXANDER, G. 1988. What makes a good mother? Components and comparative aspects of maternal behavior in ungulates. *Proc. Aust. Soc. Anim.* 17: 25-41.
- ALJUMAAH, R.S.; HUSSEIN, M.F. 2012. Serological prevalence of ovine and caprine chlamydophilosis in Riyadh region, Saudi Arabia. *Afr. J. Microbiol. Res.* 6 (11): 2654-2658.
- ALLAM, S.A.; HAFEZ, A.A.; TOLBA, S.T.M.; OSMAN, W.A.; IBRAHIM, M.K. 2017. Diagnosis of *Chlamydophila abortus* by species-specific ELISA technique with real time PCR confirmation in camels and small ruminants in the west-northern desert of Egypt. *Int. J. Innov. Appl. Res.* 5 (5): 17-25.
- ALMEIDA, D.S.; PAZ, L.N.; DE OLIVEIRA, D.S.; SILVA, D.N.; RISTOW, P.; HAMOND, C.; COSTA, F.; WAGNER PORTELA, R.; ESTRELA-LIMA, A.; HANZEN PINNA, M. 2019. Investigation of chronic infection by *Leptospira* spp. in asymptomatic sheep slaughtered in slaughterhouse. *PLoS ONE.* 14(5): e0217391.

- ALMERIA, S. 2013. *Neospora caninum* and wildlife. *ISRN Parasitol.* 1: 947347.
- AL-QUDAH, K.; SHARIF L., RAOUF R., HAILAT N., AL-DOMY F. 2004. Seroprevalence of antibodies to *Chlamydomphila abortus* shown in Awassi sheep and local goats in Jordan. *Vet. Med.* 49: 460- 466.
- AMENDOEIRA, M.R.; SOBRAL, C.A.; TEVA, A.; DE LIMA, J.N.; KLEIN, C.H. 2003. Serological survey of *Toxoplasma gondii* infection in isolated Amerindians, Mato Grosso. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.* 36: 671-676.
- AMIRSHAHI, A.; WAN, C.; BEAGLEY, K.; LATTER, J.; SYMONDS, I.; TIMMS, P. 2011. Modulation of the *Chlamydia trachomatis* in vitro transcriptome response by the sex hormones estradiol and progesterone. *BMC Microbiol.* 11 (1): 150.
- ANGELL, J.; DUNCAN, J. 2020. Watery mouth disease in neonatal lambs: a systematic literature review. *Livestock.* 25(2): 94-103.
- ANSTEY, S.; QUIGLEY, B.; POLKINGHORNE, A.; JELOCNIK, M. 2019. Chlamydial infection and on-farm risk factors in dairy cattle herds in South East Queensland. *Aust. Vet. J.* pp. 1-4.
- ARENT, Z.; FRIZZELL, C.; GILMORE, C.; MACKIE, D.; ELLIS, W.A. 2013. Isolation of Leptospire from genital tract of sheep. *Vet. Rec.* 173(23):582.
- ARRANZ-SOLÍS, D.; BENAVIDES, J.; REGIDOR-CERRILLO, J.; FUERTES, M.; FERRE, I.; FERRERAS, M.C.; COLLANTES-FERNANDEZ, E.; HEMPHILL, A.; PEREZ, V.; ORTEGA-MORA, L.M. 2015. Influence of the gestational stage on the clinical course, lesional development and parasite distribution in experimental ovine neosporosis. *Vet. Res.* 46:19.
- ARRIGO, J.L.; TERZOLO, H.R.; CASARO, A.; VILLAR, J. 1984. Neumonía enzoótica ovina. *Rev. Med. Vet.* 65 (2): 74-84.
- ARTHUR, G.; NOAKES, D.E.; PEARSON, H. 1991. Reproducción y Obstetricia en veterinaria. 6a ed. Interamericana Mc. Graw-Hil, Madrid. pp. 560-565.
- ASRANI, R.K. 2000. Studies on the pathology of *Listeria ivanovii* infection in pregnant guinea-pigs. College of Veterinary Sciences. CCS Haryana Agricultural University Hisar. pp. 120-126.
- AYELET, G.; YIGEZU, L.; GELAYE, E.; TARIKU, S.; ASMARE, K. 2004. Epidemiologic and serologic investigation of multifactorial respiratory disease of sheep in the Central Highland of Ethiopia. *Int. J. Appl. Res. Vet. Med.* 2(4):274-278.
- BAJANI, M.D.; ASHFORD, D.A.; BRAGG, S.L.; WOODS, C.W.; AYE, T.; SPIEGEL, R.A.; PLIKAYTIS, B.D.; PERKINS, B.A.; PHELAN, M.; LEVETT, P.N.; WEYANT, R.S. 2003. Evaluation off our commercially available rapid serologic tests for diagnosis of leptospirosis. *J. Clin. Microbiol.* 41: 803-809.
- BANCHERO, G.; MONTOSI, F.; DE BARBIERI, I.; QUINTÁNS, G. 2007. Esquila preparto: Algunos mecanismos implicados que podrían explicar la mayor sobrevivencia de corderos nacidos de ovejas esquiladas durante la gestación. En: XXXV Jornadas Uruguayas de Buiatría. Paysandú, Uruguay. 13p.



- BARRETT, D.J.; MORE, S.J.; O'NEILL, R.G.; COLLINS, D.M.; O'KEEFE, C.; REGAZZOLI, V.; SAMMIN, D. 2015. Exposure to *Schmallenberg* virus in Irish sheep in 2013. *Vet. Rec.* 177(19): 1-3.
- BARTLEY, P.M.; GUIDO, S.; MASON, C.; STEVENSON, H.; CHIANINI, F.; CARTY, H.; INNES, E.A.; KATZER, F. 2019. Detection of *Neospora caninum* DNA in cases of bovine and ovine abortion in the South-West of Scotland. *Parasitology.* 146(7), 979 – 982.
- BARTOLOMÉ, I.; SERRA, H.; CASASÚS, L.; CONSORTE, M.; FUCHS, K.; FERRER, L.M. 2013. Malformaciones neonatales en ovino: no todo es Enfermedad de Schmallenberg. *Mundo Ganadero Marzo/Abril '13.*, 26-32.
- BASTO CARVAJAL, C.A. 2016. Causas de mortalidad neonatal en cuatro razas ovinas de lana, durante tres períodos de partos en el centro agropecuario marengo (mosquera-cundinamarca) de la universidad nacional de Colombia. Universidad Industrial de Santander Instituto de Proyección Regional y Educación a Distancia Ipred Programa de Zootecnia Málaga. 78 p.
- BAUD, D.; REGAN, L.; GREUB, G. 2008. Emerging role of *Chlamydia* and *Chlamydia*-like organisms in adverse pregnancy outcomes. *Curr. Opin. Infect. Dis.* 21: 70-76.
- BEATTY, W.L.; MORRISON, R.P.; BYRNE, G.I. 1994. Persistent chlamydiae – from cell culture to a paradigm for chlamydial pathogenesis. *Microbiol. Rev.* 58: 686-699.
- BEDOTTI, D.; FORT, M.; VALDONE, V.; FUCHS, L.; GIMENEZ, H.; URQUIZA, J. 2008. Descripción de un caso de aborto por *Chlamydia psittaci* en un establecimiento caprino ubicado en el departamento de Puelen, provincia de la Pampa, Argentina. XVII Reunión Científica técnica de la AAVLD. del 29 al 31 de octubre, Santa Fe. Argentina.
- BELL, S. 2008. Respiratory disease in sheep: 1. Differential diagnosis and epidemiology. *Practice.* 30: 200-207.
- BENAVIDES, J.; KATZER, F.; MALEY, S.W.; BARTLEY, P.M.; CANTÓN, G.; PALAREA-ALBALADEJO, J.; PURSLOW, C.A.; PANG, Y.; ROCCHI, M.S.; BUXTON, D.; INNES, E.A. 2012. High rate of transplacental infection and transmission of *Neospora caninum* following experimental challenge of cattle at day 210 of gestation. *Vet. Res.* 43: 83.
- BESSER, T.E.; FRANCES-CASSIRER, E.; HIGHLAND, M.A.; WOLFF, P.; JUSTICE-ALLEN, A.; MANSFIELD, K.; DAVIS, M.A.; FOREYT, W. 2013. Bighorn sheep pneumonia: sorting out the cause of a polymicrobial disease. *Prev. Vet. Med.* 108 (2-3): 85-93.
- BIESENKAMP-UHE, C.; LI, Y.; HEHNEN, H.R.; SACHSE, K.; KALTENBOECK, B. 2007. Therapeutic *Chlamydophila abortus/pecorum* vaccination transiently reduces bovine mastitis associated with *Chlamydophila* infection. *Infect. Immun.* 75: 870-877.

- BOMMANA, S.; JELOCNIK, M.; BOREL, N.; MARSH, I.; CARVER, S.; POLKINGHORNE, A. 2019. The limitations of commercial serological assays for detection of chlamydial infections in Australian livestock. *J. Med. Microbiol.* 68(4):627-632.
- BOREL, N.; DUMRESE, C.; ZIEGLER, U.; SCHIFFERLI, A.; KAISER, C.; POSPISCHIL, A. 2010. Mixed infections with *Chlamydia* and porcine epidemic diarrhea virus - a new in vitro model of chlamydial persistence. *BMC Microbiol.* 10 (1): 201.
- BOREL, N.; POLKINGHORNE, A.; POSPISCHIL, A. 2018. A review on chlamydial diseases in animals: still a challenge for pathologists? *Vet. Pathol.* 55: 374-390.
- BOREL, N.M.; DOHERR, G.; VRETOU, E.; PSARROU, E.; THOMA, R.; POSPISCHIL, A. 2004. Seroprevalences for ovine enzootic abortion in Switzerland. *Prev. Vet. Med.* 65: 205-216.
- BOREL, N.M.; THOMA, R.; SPAENI, P.; WEILENMANN, R.; TEANKUM, K.; BRUGNERA, E.; ZIMMERMANN, D.R.; VAUGHAN, L.; POSPISCHIL, A. 2006. *Chlamydia*-related abortions in cattle from Graubunden, Switzerland. *Vet. Pathol.* 43: 702-708.
- BOWLAND, S.; SHEWEN, P. 2000. Bovine respiratory disease. Commercial vaccines currently available in Canada. *Can. Vet. J.* 41:33-48.
- BRIHUEGA, B. 2013. Importancia de la leptospirosis en el sector ganadero y en la salud pública en Argentina. Premio Fundación Manzullo. Sesión Pública Extraordinaria. pp. 425-427.
- BRIHUEGA, B.; CACCHIONE, R.; DURLACH, R.; MARTINO, O. 2008. Leptospirosis: diagnóstico y tipificación, Asociación Argentina de Zoonosis Temas de zoonosis IV (1ª ed.), Asociación Argentina de Zoonosis, Buenos Aires. pp. 221-227.
- BRIHUEGA, B.; SAMARTINO, L.; AUTERI, C.; VENZANO, A.; CAIMI, K. 2012. In vivo cell aggregations of a recent swine biofilm-forming isolate of *Leptospira interrogans* strain from Argentina. *Rev. Argent. Microbiol.* 44 (3):138-143.
- BRIHUEGA, B.F.; PUEYO, J.M.; SORIA, E.H.; ROBLES, C.A.; CACCHIONE, R.A.; MARTÍNEZ, E.S. 1984. Leptospirosis en la provincia de Neuquén: estudio serológico en animales y humanos. *Vet Argentina.* 5: 462-466.
- BRODZKI, P.; BOCHNIARZ, M.; BRODZKI, A.; WRONA, Z.; WAWRON, W. 2014. *Trueperella pyogenes* and *Escherichia coli* as an etiological factor of endometritis in cows and the susceptibility of these bacteria to selected antibiotics. *Pol. J. Vet. Sci.* 17:657-664.
- BROGDEN, K.A.; LEHMKUHL, H.D.; CUTLIP, R.C. 1998. *Pasteurella haemolytica* complicated respiratory infections in sheep and goats. *Vet. Res.* 29: 233-254
- BRUGÈRE-PICOUX, J. 2008. Ovine listeriosis. *Small Rum. Res.* 76: 12-20.

- BURNARD, D.; POLKINGHORNE, A. 2016. Chlamydial infections in wildlife–conservation threats and/or reservoirs of ‘spill-over’ infections? *Vet. Microbiol.* 196: 78-84.
- BURROUGH, E.R.; SAHIN, O.; PLUMMER, P.J.; ZHANG, Q.; YAEGER, M.J. 2009. Pathogenicity of an emergent, ovine abortifacient *Campylobacter jejuni* clone orally inoculated into pregnant guinea pigs. *Am. J. Vet. Res.* 70: 1269-1276.
- BUSETTI, M.; SUÁREZ, V.H. 2009. Situación actual de los tambos ovinos en Argentina. INTA EEA Anguil. pp. 1-6.
- BUXTON, D. 1991. Toxoplasmosis. In: Martin, W.B.; Aitken, I.D. (eds.), *Diseases of Sheep*. Blackwell Scientific Publications, Oxford, pp. 49-58.
- BUXTON, D. 1998. Protozoan infections (*Toxoplasma gondii*, *Neospora caninum* and *Sarcocystis* spp.) in sheep and goats: recent advances. *Vet. Res.* 29: 289-310.
- BUXTON, D.; ANDERSON, I.E.; LONGBOTTOM, D.; LIVINGSTONE, M.; WATTEGADERA, S.; ENTRICAN, G. 2002. Ovine chlamydial abortion: characterization of the inflammatory immune response in placental tissues. *J. Comp. Pathol.* 127: 133-141.
- BUXTON, D.; HENDERSON, D.D. 1999. Infectious abortion in sheep. *In Practice.* 21: 360–368.
- BUXTON, D.; MALEY, S.W.; WRIGHT, S.; THOMPSON, K.M.; RAE, A.G.; INNES, E.A. 1998. The pathogenesis of experimental neosporosis in pregnant sheep. *J. Comp. Pathol.* 118: 267-279. [https://doi.org/10.1016/S0021-9975\(07\)80003-X](https://doi.org/10.1016/S0021-9975(07)80003-X)
- CACCHIONE, R.A; CASCELLI, E.S.; SARAVÍ, M.A.; MARTÍNEZ, E.S. 1980. Difusión e importancia de las Leptospirosis animal y humana en la Argentina. *Rev. Soc. Med. Vet.* 5: 236-247.
- CALDERON, A.; RODRIGUEZ, V.; MATTAR, S.; ARRIETA, G. 2014. Leptospirosis in pigs, dogs, rodents, humans, and water in an area of the Colombian tropics. *Trop. Anim. Health Prod.* 46(2): 427-432.
- CAMPERO, C.M.; MOORE, D.P.; ODEÓN, A.C.; CIPOLLA, A.L.; ODRIOZOLA, E. 2003. Aetiology of bovine abortion in Argentina. *Vet. Res. Commun.* 27(5): 359-369.
- CAMPERO, C.M.; MOREIRA, A.R.; DAGUERRE, S.; BARTOLOME, J.; ODRIOZOLA, E. 1993. Aborto bovino asociado a *Haemophilus somnus*. *Vet Argentina.* 10: 404-409.
- CAMPERO, C.M.; ODEÓN, A.C.; CIPOLLA, A.L.; MOORE, D.P.; POSO, M.A.; ODRIOZOLA, E. 2002. Demonstration of *Listeria monocytogenes* by immunohistochemistry in formalin-fixed brain tissues from natural cases of ovine and bovine encephalitis. *J. Vet. Med. B.* 49: 379-383.

- CAMPOS HERNÁNDEZ, E.; VÁZQUEZ-CHAGOYÁN, J.C.; SALEM, A.Z. M.; SALTIJERAL-OAXACA, J.A.; ESCALANTE-OCHOA, C.; LÓPEZ-HEYDECK, S.M.; DE OCA-JIMÉNEZ, R.M. 2014. Prevalence and molecular identification of *Chlamydia abortus* in commercial dairy goat farms in a hot region in Mexico. *Trop. Anim. Health Pro.* 46(6), 919-924.
- CANIZALEZ ROMÁN, A.; FLORES VILLASENOR, H.M.; GONZALEZ NUNEZ, E.; VELAZQUEZ ROMAN, J.; VIDAL, J.E.; MURO AMADOR, S.; ALAPIZCO CASTRO, G.; DIAZ QUINONEZ, J.A.; LEON SICAIROS, N. 2016. Surveillance of Diarrheagenic *Escherichia coli* strains isolated from diarrhea cases from children. Adults and Elderly at Northwest of Mexico *Front Microbiol.* 7:1924.
- CANTÓN, G; GARCÍA, J.; LISCHINSKY, L.; FIORENTINO, M.A.; MOORE, P.; ODEÓN, A.; MOREIRA, A.; PAOLICCHI, F.; ODRIÓZOLA, E.; CAMPERO, C.; MORRELL, E. 2015. Hallazgos patológicos y diagnóstico en fetos bovinos abortados por *Leptospira* spp. según casuística del INTA. EEA Balcarce (1994-2014). 9ª Jornadas Internacionales de Veterinaria Práctica, Mar del Plata.
- CÁRDENAS HERRERA, R.R. 2014. Estudio de la Estructura Poblacional y Principales Malformaciones Congénitas Fenotípicas en Ovinos (*Ovis aries*) de los Anexos ColcaHuallata, Vincocaya e Imata del Distrito de San Antonio de Chuca, Provincia de Caylloma, Arequipa 2013. Universidad Católica de Santa María Facultad de Ciencias e Ingenierías Biológicas y Químicas Programa Profesional de Medicina Veterinaria y Zootecnia. 66 p.
- CASSON, N.; ENTENZA, J.M.; GREUB, G. 2007. Serological cross-reactivity between different *Chlamydia*-like organisms. *J Clin Microbiol.* 45:234-236.
- CASTAÑO, P.; FUERTES, M.; REGIDOR-CERRILLO, J.; FERRE, I.; FERNÁNDEZ, M.; FERRERAS, M.C.; MORENO-GONZALO, J.; GONZÁLEZ-LANZA, C.; PEREIRA-BUENO, J.; KATZER, F.; ORTEGA-MORA, L.M.; PÉREZ, V.; BENAVIDES, J. 2016. Experimental ovine toxoplasmosis: influence of the gestational stage on the clinical course, lesion development and parasite distribution. *Vet. Res.* 47:43.
- CASWELL, J.L.; WILLIAMS, K.J. 2016. Respiratory system: infectious respiratory diseases of sheep and goats. In: Grant Maxie, M. (ed.). Jubb, Kennedy and Palmer's pathology of domestic animals vol 2. 6th ed. Missouri: Elsevier, pp. 557-66.
- CHAND, P.; SADANA, J.R. 1999. Outbreak of *Listeria ivanovii* abortion in sheep in India. *Vet. Rec.* 145:83-84.
- CHANTON-GREUTMANN, H.; THOMA, R.; CORBOZ, L.; BOREL, N.; POSPISCHIL, A. 2002. Abortion in small ruminants in Switzerland: investigations during two lambing seasons (1996–1998) with special regard to chlamydial abortions. *Schweizer Archiv für Tierheilkunde.* 144: 483-492.
- CHAPPEL R.J. 1998. Serological titres to *Leptospira fainei* serovar *hurstbridge* in human sera in Australia. *Epidemiol. Infect.* 121(2):473-475.
- CHATTOPADHYAY, U.K.; RASHID, M.; SUR, S.K.; PAL, D. 2001. The occurrence of campylobacteriosis in domestic animals and their handlers in and around Calcutta. *J. Med. Microbiol.* 50: 933-934.

- CHO, Y.I.; YOON, K.J. 2014. An overview of calf diarrhea - infectious etiology, diagnosis, and intervention. *J. Vet. Sci.* 15(1): 1-17.
- CLAYTON, J.S.; MCNAMARA, E.L.; GOULLEE, H.; CONIYN, S.; MUTHSAM, K.; MUSK, G.C.; COOTE, D.; KIJAS, J.; TESTA, A.C.; TAYLOR, R.L.; O'HARA, A.J.; GROTH, D.; OTTENHEIJM, C.; RAVENSCROFT, G.; LAING, N.G.; NOWAK, K.J. 2020. Ovine congenital progressive muscular dystrophy (OCPMD) is a model of TNNT1 congenital myopathy. *Acta Neuropathol. Commun.* 8: 142.
- CLOETE, S.W.; VAN HALDEREN, A.; SCHNEIDER, D.J. 1993. Causes of perinatal lamb mortality amongst Dorper and SA Mutton Merino lambs. *J. S. Afr. Vet. Assoc.* 64: 121-125.
- CLOETE, S.W.P.; SCHOLTZ, A.J.; GILMOUR, A.R.; OLIVIER, J.J. 2002. Genetic and environmental effects on lambing and neonatal behaviour of Dorper and SA Mutton Merino lambs. *Livest. Prod. Sci.* 78:183-193.
- CLUNE, T.; BESIER, S.; HAIR, S.; HANCOCK, S.; LOCKWOOD, A.; THOMPSON, A.; JELOCNIK, M.; JACOBSON, C. 2021. *Chlamydia pecorum* detection in aborted and stillborn lambs from Western Australia. *Vet. Res.* 52 (1): 84.
- COHEN, B.S.; BELSER, E.H.; KEELER, S.P.; YABSLEY, M.J.; MILLER, K.V. 2015. Isolation and genotypic characterization of *Trueperella (Arcanobacterium) pyogenes* recovered from active cranial abscess infections of male white-tailed deer (*Odocoileus virginianus*). *J. Zoo Wildl. Med.* 46:62-67.
- COLLES, F.M.; JONES, K.; HARDING, R.M.; MAIDEN, M.C. 2003. Genetic diversity of *Campylobacter jejuni* isolates from farm animals and the farm environment. *Appl. Environ. Microbiol.* 69: 7409-7413.
- COLLINS, R.O.; EALES, F.A.; SMALL, J. 1985. Observations on watery mouth in newborn lambs. *Br. Vet. J.* 141(2):135-140.
- CORSARO, D.; VENDITTI, D. 2004. Emerging chlamydial infection. *Crit. Rev. Microbiol.* 30: 75-106.
- CORTIZO, P.; LOUREIRO, A.P.; MARTINS, G.; DO RODRIGUES, P.R.; FARIA, B.P.; LILENBAUM, W.; DEMINICIS, B.B. 2015. Risk factors to incidental leptospirosis and its role on the reproduction of ewes and goats of Espirito Santo state, Brazil. *Trop. Anim. Health Prod.* 47: 231-235.
- COSTA, D.F.; SILVA, A.F.; BRASIL, A.W.L.; LOUREIRO, A.P.P.; SANTOS, F.A.; AZEVEDO, S.S.; LILENBAUM, W.; ALVES, C.J. 2017. Leptospirosis in native mixed-breed sheep slaughtered in a semiarid region of Brazil. *Cienc. Rural.* 47(2).
- COSTELLO, P.M.; ROWLERSON, A.; ASTAMAN, N.A.; ANTHONY, F.E.W.; SAYER, A.A.; COOPER, C.; HANSON, M.A.; GREEN, L.R. 2008. Peri-implantation and late gestation maternal undernutrition differentially affect fetal sheep skeletal muscle development. *J. Physiol.* 586: 2371-2379.
- COUSINS, D.V.; ELLIS, T.M.; PARKINSON, J.; MCGLASHAN, C.H. 1989. Evidence for sheep as a maintenance host for *Leptospira interrogans* serovar hardjo. *Vet. Rec.* 124: 123-124.

- CUTLIP, R.C.; LEHMKUHL, H.D.; BROGDEN, K.A.; HSU, N.J. 1996. Lesions in lambs experimentally infected with ovine adenovirus serotype 6 and *Pasteurella haemolytica*. *J. Vet. Diagn. Invest.* 8(3):296-303.
- DALTON, D.C.; KNIGHT, T.W.; JOHNSON, D.L. 1993. Lamb survival in sheep breeds on New Zealand hill country. *NZ J. Agric. Res.* 23:167-173.
- DANTAS, A.F.M.; RIET-CORREA, F.; MEDEIROS, R.M.T.; DE GALIZA, G.J.N.; PIMENTEL, L.A.; DOS ANJOS, B.L.; MOTA, R.A. 2010. Malformações congênitas em ruminantes no semiárido do Nordeste Brasileiro. *Pesqui. Vet. Bras.* 30 (10): 807-815.
- DASSANAYAKE, R.P.; SHANTHALINGAM, S.; HERNDON, C.N.; LAWRENCE, P.K.; FRANCES CASSIRER, E.; POTTER, K.A.; FOREYT, W.J.; CLINKENBEARD, K.D.; SRIKUMARAN, S. 2009. *Mannheimia haemolytica* serotype A1 exhibits differential pathogenicity in two related species, *Ovis canadensis* and *Ovis aries*. *Vet. Microbiol.* 133: 366-371.
- DASSANAYAKE, R.P.; SHANTHALINGAM, S.; SUBRAMANIAM, R.; HERNDON, C.N.; BAVANANTHASIVAM, J.; HALDORSON, G.J.; FOREYT, W.J.; EVERMANN, J.F.; HERRMANN-HOESING, L.M.; KNOWLES, D.P.; SRIKUMARAN, S. 2013. Role of *Bibersteinia trehalosi*, respiratory syncytial virus, and parainfluenza-3virus in bighorn sheep pneumonia. *Vet. Microbiol.* 162: 166-172.
- DE CARVALHO, S.M.; GONÇALVES, L.M.F.; MACEDO, N.A.; GOTO, H.; SILVA, S.M.M.S.; MINEIRO, A.L.B.B.; YAMASHIRO KANASHIRO, E.H.; COSTA, F.A.L. 2011. Infecção por leptospiros em ovinos e caracterização da resposta inflamatória renal. *Pesq. Vet. Bras.* 31(8): 637-642.
- DE CARVALHO, S.M.; MINEIRO, A.L.; CASTRO, V.; GENOVEZ, M.E.; AZEVEDO, S.S.; COSTA, F.A. 2014. Leptospirosis seroprevalence and risk factors for sheep in Maranhão state, Brazil. *Trop. Anim. Health Pro.* 46: 491-494.
- DEKA, S.; VANOVER, J.; DESSUS-BABUS, S.; WHITTIMORE, J.; HOWETT, M.K.; WYRICK, P.B.; SCHOBORG, R.V. 2006. *Chlamydia trachomatis* enters a viable but non-cultivable (persistent) state within herpes simplex virus type 2 (HSV-2) co-infected host cells. *Cell. Microbiol.* 8: 149-162.
- DELLA ROSA, P.; COLQUE CARO, L.A.; CANTÓN, G.J.; MORRELL, E.L.; HECKER, Y.P.; PAOLICCHI, F.A.; FIORENTINO, M.A. 2019. Aborto ovino asociado a *Listeria ivanovii*. XV Congreso Argentino de Microbiología, XIV Congreso Argentino de microbiología general, V Congreso Argentino de microbiología de alimentos y V Congreso latinoamericano de microbiología de medicamentos y cosméticos. Buenos Aires, Argentina.
- DELONG, W.J.; JAWORSKI, M.D.; WARD, A.C. 1996. Antigenic and restriction enzyme analysis of *Campylobacter* spp. associated with abortion in sheep. *Am. J. Vet. Res.* 57: 163-167.
- DENNIS, S.M. 1974. Perinatal lamb mortality in Western Australia. 1. General procedures and results. *Aust. Vet. J.* 50:443-449.

- DENNIS, S.M. 1975. Perinatal lamb mortality in Western Australia: 7. Congenital defects. *Aust. Vet. J.* 51:80-82.
- DENNIS, S.M. 1990. *Campylobacter* abortion in sheep. En: KIRKBRIDE, C.A. Laboratory Diagnosis of Livestock Abortion. 3rd ed. Iowa University Press: Ames Iowa, pp. 82–85.
- DI PAOLO, L.A.; ALVARADO PINEDO, M.F.; ORIGLIA, J.; FERNÁNDEZ, G.; UZAL, F.A.; TRAVERÍA, G.E. 2019. First report of caprine abortions due to *Chlamydia abortus* in Argentina. *Veterinary Vet Med Sci.*5(2):162-167.
- DIAB, S.S.; UZAL, F.A. 2007. Diagnóstico de las causas más comunes de aborto infeccioso en ovinos y caprinos. Sitio Argentino de Producción Animal. Recuperado de: [https://www.produccion-animal.com.ar/sanidad\\_intoxicaciones\\_metabolicos/infecciosas/ovinos/06-reproduccion.pdf](https://www.produccion-animal.com.ar/sanidad_intoxicaciones_metabolicos/infecciosas/ovinos/06-reproduccion.pdf)
- DÍAZ, J.M.; FERNÁNDEZ, G.; PRIETO, A.; VALVERDE, S.; LAGO, N.; DÍAZ, P.; PANADERO, R.; LÓPEZ, C.; MORRONDO, P.; DÍEZ-BAÑOS, P. 2014. Epidemiology of reproductive pathogens in semi-intensive lamb-producing flocks in North-West Spain: A comparative serological study. *Vet. J.* 200 (2): 335-338.
- DIRECTOR, A.; PENNA, B.; HAMOND, C.; LOUREIRO, A.P.; MARTINS, G.; MEDEIROS, M.A.; LILENBAUM, W. 2014. Isolation of *Leptospira interrogans* Hardjo prajitno from vaginal fluid of a clinically healthy ewe suggests potential for venereal transmission. *J. Med. Microbiol.* 63(9): 1234-1236.
- DOMINGO, M.; RAMOS, J.A.; DOMINGUEZ, L.; FERRER, L.; MARCO, A. 1986. Demonstration of *Listeria monocytogenes* with the PAP technique in formalin fixed and paraffin embedded tissues of experimental infected mice. *J. Vet. Med. B.* 33: 537-542.
- DONACHIE, M. 2001. Pasteurellosis ovina. *PR Pequeños Rumiantes* 2(1), 36-44
- DONAHOE, S.L.; LINDSAY, S.A.; KROCKENBERGER, M.; PHALEN, D.; ŠLAPETA, J. 2015. A review of neosporosis and pathologic findings of *Neospora caninum* infection in wildlife. *Int. J. Parasitol. Parasites. Wildl.* 4:216-238.
- DONG, H.; SU, R.; LU, Y.; WANG, M.; LIU, J.; JIAN, F.; YANG Y. 2018. Prevalence, risk factors, and genotypes of *Toxoplasma gondii* in food animals and humans (2000-2017) from China. *Front. Microbiol.* 9: 1-8.
- DOS SANTOS, J.; LIMA-RIBEIRO, A.; OLIVEIRA, P.; DOS SANTOS, M.; FERREIRA, A.; MEDEIROS, A.; TAVARES, T. 2012. Seroprevalence and risk factors for Leptospirosis in goats in Uberlândia, Minas Gerais, Brazil. *Trop. Anim. Health Prod.* 44: 101-106.
- DOS SANTOS, L.F.; GUIMARÃES, M.F.; SOUZA, G.O.; DA SILVA, I.W.G.; SANTOS, J.R.; AZEVEDO, S.S. 2017. Seroepidemiological survey on *Leptospira* spp. infection in wild and domestic mammals in two distinct areas of the semi-arid region of northeastern Brazil. *Trop. Anim. Health Prod.* 49: 1715-1722.

- DRAGHI, M.G. 2012. Leptospirosis en grandes animales. Recuperado de: [https://www.vetcomunicaciones.com.ar/uploadsarchivos/leptospirosis\\_en\\_grandes\\_animales\\_dic\\_12.pdf](https://www.vetcomunicaciones.com.ar/uploadsarchivos/leptospirosis_en_grandes_animales_dic_12.pdf)
- DUBEY, J.P. 2009. Toxoplasmosis in sheep- The last 20 years. *Vet Parasitol.*163: 1-14.
- DUBEY, J.P.; HEMPHILL, A.; CALERO BERNAL, R.; SHARES, G. 2017. Neosporosis in animals. 1 ed. CRC Press. pp. 423-429.
- DUBEY, J.P.; SHARES, G.; ORTEGA MORA, L.M. 2007. Epidemiology and control of neosporosis and *Neospora caninum*. *Clin. Microbiol. Rev.* 20: 323-367.
- DUBEY, J.P.; SHARES, G. 2011 *Neosporosis* in animals the last five years. *Vet. Parasitol.* 180: 90-108.
- DUTRA, F. 2017. Leptospirosis aguda en cordero. *Archivo Veterinario del Este.* 20: 15-16.
- DUTRA, F.; QUINTANS, G.; BANCHERO, G. 2007. Lesions in the central nervous system associated with perinatal lamb mortality. *Aust Vet J.* 85 (10): 405-413.
- DWYER, C.; LAWRENCE, A. 1999. Does the behaviour of the neonate influence the expression maternal behaviour in sheep?. *Behaviour.* 136:367-389.
- DWYER, C.M. 2003. Behavioural development in the neonatal lamb: effect of maternal and birth-related factors. *Theriogenology.* 59: 1027-1050.
- EALLES, F.A.; SMALL, J.; GILMOUR, J.S.; DONACHIE, W.; FITZSIMMONS, J.; DINGWALL, W.S. 1986. A field study of watery mouth: Clinical, epidemiological, biochemical, haematological and bacteriological observations. *Vet. Rec.* 119:543-547.
- EALLES, F.A.; SMALL, J.; MURRAY, L.; MCBEAN, A. 1985. Abomasal size and emptying time in healthy lambs and in lambs affected by watery mouth. *Vet. Rec.* 117:332-335.
- EHRICHT, R.; SLICKERS, P.; GOELLNER, S.; HOTZEL, H.; SACHSE, K. 2006. Optimized DNA microarray assay allows detection and genotyping of single PCR-amplifiable target copies. *Mol. Cell. Probes.* 20: 60-63.
- ELISCHEROVÁ, K.; CUPKOVÁ, E.; URGEOVÁ, E.; LYSÝ, J.; SESEVICKOVÁ, A. 1990. Isolation of *Listeria ivanovii* in Slovakia. *Cesk Epidemiol. Mikrobiol. Imunol.* 39: 228-236.
- ELLIS, W.A. 1994. Leptospirosis as a cause of reproductive failure. *Vet. Clin. North. Am. Food. Anim. Pract.* 10: 463-478.
- ELLIS, W.A. 2015. Animal leptospirosis. *Curr. Top. Microbiol. Immunol.* 387: 99-137.
- ELLIS, W.A.; BRYSON, D.G.; NEILL, S.D.; MCPARLAND, P.J.; MALONE, F.E. 1983. Possible involvement of leptospire in abortion, stillbirths and neonatal deaths in sheep. *Vet. Rec.* 112: 291-293.



- ELLIS, W.A.; O'BRIEN, J.J.; CASSELLS, J. 1981 Role of cattle in the maintenance of *Leptospira interrogans* serotype hardjo infection in Northern Ireland. *Vet. Rec.* 108: 555-557.
- ESPÍ, A.; PRIETO, J.M.; ALVAREZ, M. 2001. Situación sanitaria del ovino en Asturias: seroprevalencia de la enfermedad de la frontera, Maedi-visna, aborto enzoótico, agalaxia contagiosa, fiebre Q y leptospirosis. *Proceedings de las XXVI Jornadas Científicas y V Internacionales de la Sociedad Española de Ovinotecnia y Caprinotecnia. Sevilla.*
- ESSIG, A.; LONGBOTTOM, D. 2015. *Chlamydia abortus*: new aspects of infectious abortion in sheep and potential risk for pregnant women. *Curr. Clin. Microbiol. Reports* 2: 22-34.
- FAHEY, A.J.; BRAMELD, J.M.; PARR, T.; BUTTERY, P.J. 2005. The effect of maternal undernutrition before muscle differentiation on the muscle fiber development of the newborn lamb. *J. Anim. Sci.* 83: 2564-2571.
- FANG, F.; COLLINS-EMERSON, J.M.; CULLUM, A.; HEUER, C.; WILSON, P.R.; BENSCHOP, J. 2014. Shedding and seroprevalence of pathogenic *Leptospira* spp. in sheep and cattle at a New Zealand abattoir. *Zoonoses Public Hlth.* 62(4): 258-268.
- FARIAS, L.D.; LEITE, F.L.L.; MARCHIORO, S.B.; GASPERIN, B.G.; LIBARDONI, F.; MASUDA, E.K.; DE VARGAS, A.C. 2013. Outbreak of ovine respiratory manheimiosis in southern Brazil. *Rev. Med. Vet. Zoot.* 20(2): 255-259.
- FERNÁNDEZ ABELLA, D.; CUETO, M.; FERRUGEM MORAES, J. 2017. Factores que afectan la supervivencia del cordero. *Rev. Arg. Prod. Anim.* 17 (2): 1-16.
- FERNÁNDEZ, M.; FERRERAS, M.C.; GARCÍA MARÍN, J.F.; PÉREZ, V. 2012. Abortos en la especie ovina: caracterización lesional y diagnóstico en Castilla y León. *PATO271-O.* 1: 322-326.
- FERNÁNDEZ, S.; GALAPERO, J.; GÓMEZ, L.; PÉREZ, C.J.; CID, D.; MARTÍN, M. C.; ALONSO, J.M.; REY, J. 2016. *Mannheimia haemolytica* and *Bibersteinia trehalosi* Serotypes Isolated from Merino Breed Lambs in Extremadura (Southwestern Spain). *Indian J. Microbiol.* 56(4): 513-515.
- FIORENTINO, M.A.; BRUNELLO, G.E.; CASTRO, M.A.; CABRAL ORTIZ, D.A.; AGUILERA, N.; VILLAGRAN, E.; VERA, T.A. 2015. Serología positiva a *Chlamydia abortus* en cabras con antecedentes de abortos del departamento Chamental-provincia de La Rioja, Argentina. 9ª Seminario de la Fundación Charles Louis Davis en Argentina. Salta, Argentina.
- FIORENTINO, M.A.; HECKER, Y.; MORSELLA, C.; CANTON, G.; STAZIONATI, M.; ROMERO HARRIS, H.; BEDOTTI, D. 2015. *Campylobacter fetus* subespecie *fetus* asociado a un brote de abortos en ovinos. 9ºSeminario de la Fundación Charles Louis Davis II en Argentina. Salta, Argentina.

- FIorentino, M.A.; MALENA, R.C.; MANAZZA, J.; PAOLICCHI, F.A. 2003. Estudio preliminar para el diagnóstico de *Chlamydophila abortus* en ovinos. Primer Foro Nacional sobre Infecciones por *Chlamydia* spp. en Humanos y Animales. Córdoba, Argentina.
- FRAGKOU, I.A.; GOUGOULIS, D.A.; BILLINIS, C.; MAVROGIANNI, V.S.; BUSHNELL, M.J.; CRIPPS, P.J.; TZORA, A.; FTHENAKIS, G.C. 2011. Transmission of *Mannheimia haemolytica* From the Tonsils of Lambs to the Teat of Ewes During Sucking. *Vet. Microbiol.* 148 (1): 66-74.
- GARCÍA PÉREZ, A.L.; JUSTE, R.A.; GONZÁLEZ, L.; MARCO, J.C.; ADURIZ, G. 1998. Revisión de la casuística de abortos ovinos del trienio (96-98) en NEIKER (SIMA). *Producción Ovina y Caprina.* 23: 321-324.
- GÁZQUEZ ORTIZ, A. 1991. Patología Veterinaria. Madrid, Editorial Interamericana McGraw-Hill. pp. 425-450.
- GERBER, A.; THOMA, R.; VRETOU, E.; PSARROU, E.; KAISER, C.; DOHERR, M.G.; ZIMMERMANN, D.R.; POLKINGHORNE, A.; POSPISCHIL, A.; BOREL, N. 2007. Ovine enzootic abortion (OEA): comparison of antibody responses in vaccinated and naturally-infected Swiss sheep over a two year period. *BMC Vet Res.* 3: 24.
- GERRITSEN, M.J.; KOOPMANS, M.J.; PETERSE, D.; OLYHOEK, T. 1994. Sheep as maintenance host for *Leptospira interrogans* serovar hardjo subtype hardjovovis. *Am. J. Vet. Res.* 55: 1232-1237.
- GHANBARPOUR, R.; ASKARI, N.; GHORBANPOUR, M.; TAHAMTAN, Y.; MASHAYEKHI, K.; AFSHARIPOUR, N.; DARIJANI, N. 2017. Genotypic analysis of virulence genes and antimicrobial profile of diarrheagenic *Escherichia coli* isolated from diseased lambs in Iran. *Trop. Anim. Health Prod.* 49: 591-597.
- GIEFFERS, J.; RUPP, J.; GEBERT, A.; SOLBACH, W.; KLINGER, M. 2004. First-choice antibiotics at subinhibitory concentrations induce persistence of *Chlamydia pneumoniae*. *Antimicrob. Agents Chemother.* 48: 1402-1405.
- GILL, P.A.; BOULTON, J.G.; FRASER, G.C.; STEVENSON, A.E.; REDDACLIFF, L.A. 1997. Bovine abortion caused by *Listeria ivanovii*. *Aust. Vet. J.* 75:214.
- GILMOUR, J.; DONACHIE, W.; EALES, F. 1985. Pathological and microbiological findings in 38 lambs with watery mouth. *Vet. Rec.* 117(13):335-337.
- GIVENS, M.D.; MARLEY, M.S. 2008. Infectious causes of embryonic and fetal mortality. *Theriogenology.* 70(3): 270-285.
- GONDIM, L.; MCALLISTER, M.; PITT, W.; ZEMLICKA, D. 2004. Coyotes (*Canis latrans*) are definitive hosts of *Neospora caninum*. *Int. J. Parasitol.* 34: 159-161.
- GONZÁLEZ-WARLETA, M.; CASTRO-HERMIDA, J.A.; CALVO, C.; PÉREZ, V.; GUTIÉRREZ-EXPÓSITO, D.; REGIDOR-CERRILLO, J.; ORTEGA-MORA, L.M.; MEZO, M. 2018. Endogenous transplacental transmission of *Neospora caninum* during successive pregnancies across three generations of naturally infected sheep. *Vet. Res.* 49: 106.

- GORCHS, C.; LAGER, I. 2001. Blue tongue. Update on the agent and the disease. *Rev. Argent. Microbiol.* 33(2):122-132.
- GROOMS, D.L. 2006. Reproductive losses caused by bovine viral diarrhea virus and leptospirosis. *Theriogenology.* 66: 624-628.
- GROOMS, D.L.; BOLIN, C.A. 2005. Diagnosis of fetal loss caused by bovine viral diarrhea virus and *Leptospira* spp. *Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract.* 21: 463-472.r
- GROVE-WHITE, D.H.; LEATHERBARROW, A.J.; CRIPPS, P.J.; DIGGLE, P.J.; FRENCH, N.P. 2010. Temporal and farm management- associated variation in the faecal-pat prevalence of *Campylobacter jejuni* in ruminants. *Epidemiol. Infect.* 138: 549-558.
- GUILHEM, C.; BIDEAU, E.; GERARD, J.F.; MAUBLANC, M.L.; PÉPIN, D. 2006 Early differentiation of male and female interactive behaviour as a possible mechanism for sexual segregation in mouflon sheep (*Ovis gmelini*). *Appl. Anim. Behav. Sci.* 98:54-69.
- GUILLET, C.; JOIN-LAMBERT, O.; LE MONNIER, A.; LECLERCQ, A.; MECHAÏ, F.; MAMZER-BRUNEEL, M.F.; BIELECKA, M.K.; SCORTTI, M.; DISSON, O.; BERCHE, P.; VAZQUEZ-BOLAND, J.; LORTHOLARY, O.; LECUI, M. 2010. Human listeriosis caused by *Listeria ivanovii*. *Emerg. Infect. Dis.* 16(1): 136-138.
- GUTIÉRREZ, J.; WILLIAMS, E.J.; O'DONOVAN, J.; BRADY, C.; PROCTOR, A.F.; MARQUES, P.X.; WORRALL, S.; NALLY, J.E.; MCELROY, M.; BASSETT, H.F.; SAMMIN, D.J.; MARKEY, B.K. 2011. Monitoring clinical outcomes, pathological changes and shedding of *Chlamydophila abortus* following experimental challenge of periparturient ewes utilizing the natural route of infection. *Vet. Microbiol.* 147: 119-126.
- HAMOND, C.; MARTINS, G.; BREMONT, S.; MEDEIROS, M.A.; BOURHY, P.; LILENBAUM, W. 2014. Predominance of *Leptospira interrogans* serovar Bratislava DNA in vaginal fluid of mares suggests sexual transmission of leptospirosis. *Anim. Reprod. Sci.* 151 (3-4): 275-279.
- HAMOND, C.; SILVEIRA, C. S.; BURONI, F.; SUANES, A.; NIEVES, C.; SALABERRY, X.; ARÃOZ, V.; COSTA, R.A.; RIVERO, R.; GIANNITTI, F.; ZARANTONELLI, L. (2019). *Leptospira interrogans* serogroup Pomona serovar Kennewicki infection in two sheep flocks with acute leptospirosis in Uruguay. *Transbound. Emerg. Dis.* 66(3): 1186-1194.
- HARTSKEERL, R.A.; COLLARES-PEREIRA, M.; ELLIS, W.A. 2011. Emergence, control and re-emerging leptospirosis: dynamics of infection in the changing world. *Clin. Microbiol. Infect.* 17: 494-501.
- HAWKINS, E.C. 2004. Doenças do Parênquima Pulmonar. En: Ettinger, S.J.; Feldman, E. C. Tratado de Medicina Interna Veterinária: Doenças do Cão e do Gato. 5ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. pp.1120-1151.

- HAZLETT, M.; MCDOWALL, R.; DELEY, J.; STALKER, M.; MCEWEN, B.; DREUMEL, T.; SPINATO, M.; BINNINGTON, B.; SLAVIC, D.; CARMAN, S.; CAI, H. 2013. Prospective study of sheep and goat abortion using real-time polymerase chain reaction and cut point estimation shows *Coxiella burnetii* and *Chlamydophila abortus* infection concurrently with other major pathogens. *J. Vet. Diagn. Invest.* 25: 359-368.
- HECKER, Y.P.; MORRELL, E.L.; FIORENTINO, M.A.; GUAL, I.; RIVERA, E.; FIORANI, F.; DORSCH, M.; GOS, M.L.; PARDINI, L.L.; SCIOLI, M.V.; MAGARIÑOS, S.; PAOLICCHI, F.A.; CANTÓN, G.J.; MOORE, D.P. 2019. Ovine Abortion by *Neospora caninum*: First Case Reported in Argentina. *Acta Parasit.* 64: 950-955.
- HEDSTROM, O.R.; SONN, R.J.; LASSEN, E.D.; HULTGREN, B.D.; CRISMAN, R.O.; SMITH, B.B.; SNYDER, S.P. 1987. Pathology of *Campylobacter jejuni* abortion in sheep. *Vet. Pathol.* 24: 419-426.
- HIDE, G. 2016. Role of vertical transmission of *Toxoplasma gondii* in prevalence of infection. *Expert Rev. Anti-Infect. Ther.* 14: 335-344.
- HIRECHE, S.; ABABNEH, M.M.K.; BOUAZIZ, O.; BOUSSENA, S. 2015. Seroprevalence and molecular characterization of *Chlamydia abortus* in frozen fetal and placental tissues of aborting ewes in northeastern Algeria. *Trop. Anim. Health Prod.* 48(2): 255-262.
- HIRECHE, S.; BOUAZIZ, O.; DJENNA, D.; BOUSSENA, S.; AIMEUR, R.; KABOUIA, R.; BERERHI, E.H. 2014. Seroprevalence and risk factors associated with *Chlamydophila* spp. infection in ewes in the northeast of Algeria. *Trop Anim Health Prod.* 46: 467-473.
- HODGSON, J.C. 1993. Watery mouth disease in newborn lambs. *Veterinary Annual.* 33: 102-106.
- HODGSON, J.C.; KING, T.J.; MOON, G.; DONACHIE, W.; QUIRIE, M. 1989. Host responses during infection in newborn lambs. *FEMS Microbiology Immunology.* 47: 311-312.
- HODGSON, J.E.; KING, T.J.; HAY, L.A.; ELSTON, D.A. 1989. Biochemical and haematological evidence of endotoxic shock in gnotobiotic lambs with watery mouth disease. *Vet. Sci. Res. J.* 47: 119-124.
- HOLLER, L.D. 2012. Ruminant abortion diagnostics. *Vet. Clin. North. Am. Food. Anim. Pract.* 28(3):407-418.
- HOLMØY, I.H.; WAAGE, S.; GRANQUIST, E.G.; L'ABÉE-LUND, T.M.; ERSDAL, C.; HEKTOEN, L.; SØRBY, R. 2016. Early neonatal lamb mortality: postmortem findings. *Animal.* 11(02): 295-305. doi:10.1017/s175173111600152x
- HOLT, J.G.; KRIEG, N.R.; SNEATH, P.H.A.; STALEY, J.T.; WILLIAMS, S.T. 1994. *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology.* 9<sup>o</sup> ed. Microbiology. Williams & Wilkins. pp. 602-606.

- HUFFMAN, E.M.; KIRK, J.H.; PAPPAIOANOU, M. 1985. Factors associated with neonatal lamb mortality. *Theriogenology*. 24: 163-171.
- HURTADO, A.; ADURIZ, G.; MORENO, B.; BARANDIKA, J.; GARCÍA-PÉREZ, A.L. 2001. Single tube nested PCR for the detection of *Toxoplasma gondii* in fetal tissues from naturally aborted ewes. *Vet. Parasitol.* 102(1-2): 17-27.
- HVIDSTEN, D.; HALVORSEN, D.S.; BERDAL, B.P.; GUTTEBERG, T.J. 2009. *Chlamydia pneumoniae* diagnostics: importance of methodology in relation to timing of sampling. *Clin. Microbiol. Infect.* 15: 42-49.
- Di Rienzo, J.A.; Casanoves, F.; Balzarini, M.G.; Gonzalez, L.; Tablada, M.; Robledo, Y.C. 2017. InfoStat versión 2017. [Software Estadístico] Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina. <https://www.infostat.com.ar/index.php>
- International Office of Epizootics [OIE]. 2008. Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals (mammals, birds and bees). Vol 2. 6ª ed., OIE, Paris, pp. 599-1342.
- International Office of Epizootics 2018a. Aborto enzoótico de las ovejas (Clamidiosis ovina) (infección por *Chlamydia abortus*). Capítulo 3.7.5. En: Manual of diagnostic tests and vaccines for terrestrial animals 2018. OIE: Paris Recuperado de: [https://www.oie.int/fileadmin/Home/esp/Health\\_standards/tahm/3.07.05 Aborto enz\\_ovejas.pdf](https://www.oie.int/fileadmin/Home/esp/Health_standards/tahm/3.07.05_Aborto_enz_ovejas.pdf)
- International Office of Epizootics. 2020. Enfermedades animales OIE: Paris. Recuperado de :<https://www.oie.int/es/que-hacemos/sanidad-y-bienestar-animal/enfermedades-animales>
- International Office of Epizootics. 2018b. Leptospirosis. Capítulo 3.1.12. En: Manual of diagnostic tests and vaccines for terrestrial animals 2018. OIE: Paris Recuperado de. [https://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Health\\_standards/tahm/3.01.12 LEPTO.pdf](https://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Health_standards/tahm/3.01.12_LEPTO.pdf)
- IRAZOQUI, H.; RODRÍGUEZ IGLESIAS, R.M.; LATIMORI, N.J.; GIGLIOLI, C.; OLAECHEA, C.; ROBLES, F.V.; SUÁREZ, M. 1992. Mortalidad perinatal de corderos en el sur oeste bonaerense. II. Causas. *Rev Arg Prod Anim* 12: 331-337.
- IVANOV, I. 1962. Untersuchungen u"ber die Listeriose der Schafe in Bulgarien. *Monatsh. Veterinarmed.* 17: 729-736.
- JOLLEY, W.R.; MCALLISTER, M.M.; MCGUIRE, A.M.; WILLS, R.A. 1999. Repetitive abortion in *Neospora*-infected ewes. *Vet. Parasitol.* 82 (3): 251-257.
- JONES, G.E.; JONES, K.A.; MACHELL, J.; BREBNER, J.; ANDERSON, I.E.; HOW, S. 1995. Efficacy trials with tissue-culture grown, inactivated vaccines against chlamydial abortion in sheep. *Vaccine*. 13: 715-723.
- JOST, B.H.; BILLINGTON, S.J. 2005. *Arcanobacterium pyogenes*: molecular pathogenesis of an animal opportunist. *Anton. Leeuw. Int. J. G.* 88:87-102.
- KALENDER, H.; KILIÇ, A.; ERÖKSÜZ, H.; MUZ, A.; KILINÇ, Ü.; TAŞDEMİR, B. 2013. Identification of *Chlamydia abortus* infection in aborting ewes and goats in Eastern Turkey. *Revue Méd. Vét.* 164 (6): 295-301.

- KERSLAKE, J.I.; EVERETT-HINCKS, J.M.; CAMPBELL, A.W. 2005. Lamb survival: a new examination of an old problem. *Proceedings of the New Zealand Society of Animal Production*. 65: 13-18.
- KHODAKARAM-TAFTI, A.; IKEDE, B.O. 2005. A retrospective study of sporadic bovine abortions, stillbirths, and neonatal abnormalities in Atlantic Canada, from 1990 to 2001. *Can. Vet. J.* 46(7): 635-637.
- KING, J.; ŠLAPETA, J.; JENKINS, D.; AL QASSAB, S.; ELLIS, J.; WINDSOR, P. 2010. Australian dingoes are definitive hosts of *Neospora caninum*. *Int. J. Parasitol.* 40: 945-950.
- KING, T.; HODGSON, C. 1991. Watery mouth in lambs. *In Practice*. 13: 23-24.
- KIRKBRIDE, C. 1993. Diagnoses in 1,784 ovine abortions and stillbirths. *J. Vet. Diagn. Invest.* 5: 398-402.
- KJELSTRUP, C.K.; ARNESEN, L.P.S.; GRANQUIST, E.G.; L'ABÉE-LUND, T.M. 2013. Characterization of *Escherichia coli* O78 from an outbreak of septicemia in lambs in Norway. *Vet. Microbiol.* 166: 276-280.
- KO, A.I.; GALVÃO REIS, M.; RIBEIRO DOURADO, C.M.; JOHNSON JR. W.D.; RILEY L.W. 1999. Urban epidemic of severe leptospirosis in Brazil. Salvador Leptospirosis Study Group. *Lancet*. 354: 820-825.
- KOPIC, S.; GEIBEL, J.P. 2010. Toxin mediated diarrhea in the 21<sup>st</sup> century: the pathophysiology of intestinal ion transport in the course of ETEC, *V. cholerae* and rotavirus infection. *Toxins (Basel)* 2:2132-2157.
- KOSGEY, I.S.; BAKER, R.L.; UDO, H.M.J.; VAN ARENDONK, J.A.M. 2006. Successes and failures of small ruminant breeding programmes in the tropics: a review. *Small Rumin. Res.* 61: 13-28.
- LACASTA, D.; FERRER, L.M.; RAMOS, J.J.; GONZÁLEZ, J.M.; HERAS, M. 2008. Influence of climatic factor on the development of pneumonia in lambs. *Small Rumin. Res.* 80: 28-32.
- LARAS, K.; CAO, B.V.; BOUNLU, K.; NGUYEN, T.K.; OLSON, J.G.; THONGCHANH, S.; TRAN, N.V.; HOANG, K.L.; PUNJABI, N.; HA, B.K.; UNG, S.A.; INSISIENGMAY, S.; WATTS, D.M.; BEECHAM, H.J.; CORWIN, A.L. 2002. The importance of leptospirosis in Southeast Asia. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 67: 278-286
- LASHLEY, V.D.; ROE, W.D.; KENYON, P.R.; THOMPSON, K.G. 2013. Perinatal lamb mortality: an assessment of gross, histological and immunohistochemical changes in the central nervous system. *N. Z. Vet. J.* 62: 160-166.
- LEAVER, H.A.; HOWIE, A.; AITKEN, I.D.; APPELYARD, W.; ANDERSON, I.E.; JONES, G.; HAY, L.A.; WILLIAMS, G.E.; BUXTON, D. 1989. Changes in progesterone, oestradiol 17 $\beta$ , and intrauterine prostaglandin E2 during late gestation in sheep experimentally infected with an ovine abortion strain of *Chlamydia psittaci*. *J. Gen. Microbiol.* 135: 565-573.

- LEEK, B.F. 1993. Digestion in the Ruminant Stomach. En: Swenson MJ, Wreece WO (eds). *Dukes' Physiology of Domestic Animals*. Cornell University Press: New York, pp. 397-416.
- LENZKO, H.; MOOG, U.; HENNING, K.; LEDERBACH, R.; DILLER, R.; MENGE, C.; SACHSE, K.; SPRAGUE, L.D. 2011. High frequency of chlamydial co-infections in clinically healthy sheep flocks. *BMC Vet Res* 7: 1-29.
- LEON-VIZCAINO, L.; DE MENDOZA, M.H.; GARRIDO, F. 1987. Incidence of abortions caused by leptospirosis in sheep and goats in Spain. *Comp. Immunol. Microbiol. Infect. Dis.* 10: 149-153.
- LEVETT, P.N. 2001. Leptospirosis. *C. Microbiol. Rev.* 14: 296-326.
- LEWIS, J.M.; CLIFFORD, S.; NSUTEBU, E. 2015. Toxoplasmosis in immunosuppressed patients. *Rheumatology*. 54(11):1939-1940.
- LILENBAUM, W.; VARGES, R.; BRANDÃO, F.Z.; CORTEZ, A.; DE SOUZA, S.O.; BRANDÃO, P.E.; RICHTZENHAIN, L.J.; VASCONCELLOS, S.A. 2008. Detection of *Leptospira* spp. in semen and vaginal fluids of goats and sheep by polymerase chain reaction. *Theriogenology*. 69(7): 837-842.
- LILENBAUM, W.; VARGES, R.; RISTOW, P.; CORTEZ, A.; SOUZA, S.O.; RICHTZENHAIN, L.J.; VASCONCELLOS, S.A. 2009. Identification of *Leptospira* spp. carriers among seroreactive goats and sheep by polymerase chain reaction. *Res. Vet. Sci.* 87: 16-19.
- LINDSTRÖM, L.; TAUNI, F.A.; VARGMAR, K. 2018. Bronchopneumonia in Swedish lambs: a study of pathological changes and bacteriological agents. *Acta Vet. Scand.* 60(1).
- LIU, Q.; WANG, Z.D.; HUANG, S.Y.; ZHU, X.Q. 2015. Diagnosis of toxoplasmosis and typing of *Toxoplasma gondii*. *Parasit. Vectors.* 8: 292-305.
- LIVINGSTONE, M.; ENTRICAN, G.; WATTEGEDERA, S.; BUXTON, D.; MCKENDRICK, I.J.; LONGBOTTOM, D. 2005. Antibody responses to recombinant protein fragments of the major outer membrane protein and polymorphic outer membrane protein POMP90 in *Chlamydophila abortus*-infected pregnant sheep. *Clin. Diagn. Lab. Immunol.* 12:770-777.
- LIVINGSTONE, M.; WHEELHOUSE, N.; ENSOR, H.; ROCCHI, M.; MALEY, S.; AITCHISON, K.; WATTEGEDERA, S.; WILSON, K.; SAIT, M.; SIARKOU, V.; VRETOU, E.; ENTRICAN, G.; DAGLEISH, M.; LONGBOTTOM, D. 2017. Pathogenic outcome following experimental infection of sheep with *Chlamydia abortus* variant strains LLG and POS. *PLoS ONE*. 12(5): e0177653.
- LIVINGSTONE, M.; WHEELHOUSE, N.; MALEY, S.W.; LONGBOTTOM, D. 2009. Molecular detection of *Chlamydophila abortus* in post-abortion sheep at oestrus and subsequent lambing. *Vet. Microbiol.* 135: 134-141.
- LONGBOTTOM, D.; COULTER, L. 2003. Animal chlamydioses and zoonotic implications. *J Comp Pathol.* 128 (4): 217-244.

- LONGBOTTOM, D.; LIVINGSTONE, 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. *PLoS ONE* 8(2): e57950.
- LÓPEZ GALLEGO, F. 2003. El sector ovino en Extremadura: Producción y comercialización. In: La agricultura y la ganadería Extremadura en 2002. Caja Badajoz, Spain. pp. 145-173.
- LOW, J.C.; DONACHIE, W. 1997. A Review of *Listeria monocytogenes* and Listeriosis. *Vet. J.* 153(1): 9-29.
- LYNCH, G.; SIMONETTI, L.; GHIBAUDI, M.; MC CORMICK, M.; BORRA, G. 2018. Pérdidas neonatales de corderos: Causas principales y factores incidentes Revista de Divulgación Técnica Agropecuaria, Agroindustrial y Ambiental. Facultad de Ciencias Agrarias. UNLZ. 5 (3): 18-30.
- MACEDO, R.; ARREDONDO, V.; RODRÍGUEZ, J.; RAMÍREZ, J.; LÓPEZ, B. 2010. Efecto del sistema de producción, de la época de nacimiento y del sexo sobre la mortalidad neonatal de corderos pelibuey. *Trop. Subtrop. Agroecosystems*. 12: 77-84.
- MACLACHLAN, N.J.; OSBURN, B.I. 2017. Teratogenic bluetongue and related orbivirus infections in pregnant ruminant livestock: timing and pathogen genetics are critical. *Curr Opin Virol*. 27: 31-35.
- MAINAR JAIME, R.C.; DE LA CRUZ, C.; VÁZQUEZ BOLAND, J.A. 1998. Epidemiologic study of chlamydial infection in sheep farms in Madrid, Spain. *Small Rumin Res*. 28: 131-138.
- MANDAL, A.; PRASAD, H.; KUMAR, A.; ROY, R.; SHARMA, N. 2007. Factors associated with lamb mortalities in Muzaffarnagari sheep. *Small Rumin. Res*. 71:273-279.
- MARGINEDA, C.; LIGUORI, E.; BESSONE, F.; ZIELINSKI, G. 2015. Brote de Manheimiosis neumónica en ovinos en la región centro de Argentina: Descripción de un caso. 9º Seminario Argentino de la Fundación Charles Louis Davis, Salta, Argentina.
- MARI, J.J.1989. Pérdidas de corderos. En: Bonino Morlán, J.; Durán del Campo, A.; Mari, J.J. (eds.). Enfermedades de los Lanares. Hemisferio Sur, Montevideo. 3: 73-100.
- MARTÍNEZ, A.; APOSTOLO, R.; ROBLES, C. 2019. Bronconeumonía en corderos. *Vet Argentina*. 36: 371.
- MARTINS, G.; BRANDÃO, F.Z.; HAMOND, C.; MEDEIROS, M.; LILENBAUM, W. 2012a. Diagnosis and control of an outbreak of leptospirosis in goats with reproductive failure. *Vet. J.* 193: 600-601.
- MARTINS, G.; LILENBAUM, W. 2014. Leptospirosis in sheep and goats under tropical conditions. *Trop. Anim. Health Prod*. 46: 11-17.



- MARTINS, G.; PENNA, B.; HAMOND, C.; LEITE, R.C.K.; SILVA, A.; FERREIRA, A.; BRANDÃO, F.; OLIVEIRA, F.; LILENBAUM, W. 2012b. Leptospirosis as the most frequent infectious disease impairing productivity in small ruminants in Rio de Janeiro, Brazil. *Trop. Anim. Health Prod.* 44: 773–777.
- MASALA, G.; PORCU, R.; DAGA, C.; DENTI, S.; CANU, G.; PATTA, C.; TOLA, S. 2007. Detection of pathogens in ovine and caprine abortion samples from Sardinia, Italy, by PCR. *J. Vet. Diagn. Invest.* 19(1): 96-98.
- MASALA, G.; PORCU, R.; SANNA, G.; TANDA, A.; TOLA, S. 2005. Role of *Chlamydophila abortus* in ovine and caprine abortion in Sardinia, Italy. *Vet. Res. Commun.* 29:117-123.
- MCEWEN, A.D.; LITTLEJOHN, A.I.; FOGGIE, A. 1951. Enzootic abortion in ewes. Some aspects of infection and resistance. *Vet. Rec.* 63: 489-492.
- MCFARLANE, D. 1965. Perinatal lamb losses. *N. Z. Vet. J.* 13: (5) 116-135.
- MCGAVIN, M.D.; BAYNES, I.D. 1969. A Congenital progressive ovine muscular dystrophy. *Path. vet.* 6: 513-524.
- MCGAVIN, M.D.; ZACHARY, J. 2007. Pathologic basis of veterinary disease. In: Pathology of organ system, 4th ed. Elsevier: St. Louis. pp. 490-495.
- MELLOR, D.J. 1987. Nutritional effects on the fetus and mammary gland during pregnancy. *Proc. Nutr. Soc.* 46(2): 249-257.
- MELLOR, D.J.; HODGSON J.C. 2007. The perinatal period. In: Aitken, I.D. (ed). Diseases of Sheep 4th ed. Blackwell Publishing, Oxford, UK. pp 65-71.
- MELLOR, D.J.; STAFFORD, K.J. 2004. Animal welfare implications of neonatal mortality and morbidity in farm animals. *Vet. J.* 168: 118-133.
- MENZIES, P.I. 2011. Control of Important causes of Infectious Abortion in Sheep and Goats. *Vet. Clin. Food. Anim.* 27: 81-93.
- MILLER, R.B. 1995. Patología de la reproducción en el ganado vacuno. Informe técnico N° 65. Departamento de patología animal. Servicio de Investigación y Mejora Agraria. Berreaga Kalea. 25 p.
- MILLER, R.B.; QUINN, P.J. 1975. Observations on abortions in cattle: A comparison of pathological, microbiological and immunological findings in aborted fetuses and fetuses collected at abattoirs. *Can. J. Comp. Med.* 39: 270-290.
- MINISTERIO DE AGROINDUSTRIA GANADERÍA Y PESCA. 2021. Ovnos. Existencias: Existencias ovinas por provincia: Marzo 2021 [Archivo PDF] MAGyP. [https://www.agroindustria.gob.ar/sitio/areas/d\\_ovinos/estadistica/existencias/index.php](https://www.agroindustria.gob.ar/sitio/areas/d_ovinos/estadistica/existencias/index.php)
- MIOTTO, B.A.; DA HORA, A.S.; TANIWAKI, S.A.; BRANDÃO, P.E.; HEINEMANN, M.B.; HAGIWARA, M.K. 2018. Development and validation of a modified TaqMan based real-time PCR assay targeting the *lipI32* gene for detection of pathogenic *Leptospira* in canine urine samples. *Braz. J. Microbiol.* 49(3):584-590.

- MOELLER, R.B.Jr. 2001. Causes of caprine abortion: diagnostic assessment of 211 cases (1991–1998). *J. Vet. Diagn. Invest.* 13: 265-270.
- MONAHAN, A.M.; CALLANAN, J.J.; NALLY, J.E. 2009. Review paper: Host-pathogen interactions in the kidney during chronic leptospirosis. *Vet Pathol.* 46(5):792-799.
- MONTOYA J.G.; LIESENFELD, O. 2004. Toxoplasmosis. *Lancet.* 363 (9425): 1965-1976.
- MOORI BAKHTIARI, N.; SEIFI, M.; GHORBANPOUR, M.; GOORANINEJAD, S. 2011. Cloning and expression segment of the POMP90 gene *Chlamydia abortus* strain S26/3 in *E. coli*. *Iran Vet. J.* 7: 74-80.
- MORA DÍAS, J.C.; DÍAZ APARICIO, E.; HERRERA LÓPEZ, E.; SUÁREZ GÜEMES, F.; ESCALANTE OCHOA, C.; JAIMES VILLARREA, S.; ARELLANO-REYNOSO, B. 2015. Aislamiento de *Chlamydia abortus* en rebaños caprinos lecheros y su relación con casos de aborto en Guanajuato, México. *Vet. Mex.* 2 (1): 1-11.
- MORÉ, G.; PARDINI, L.; BASSO, W.; MACHUCA, M.; BACIGALUPE, D.; VILLANUEVA, M.C.; SCHARES, G.; VENTURINI, M.C.; VENTURINI, L. 2010. Toxoplasmosis and genotyping of *Toxoplasma gondii* in *Macropus rufus* and *Macropus giganteus* in Argentina. *Vet. Parasitol.* 169: 57-61.
- MORENO, B.; COLLANTES FERNÁNDEZ, E.; VILLA, A.; NAVARRO, A.; REGIDOR CERRILLO, J.; ORTEGA MORA, L.M. 2012. Occurrence of *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* infections in ovine and caprine abortions. *Vet. Parasitol.* 187: 312-318.
- MUELLER, J.P. 2013. Producción ovina en la Argentina. Primer Congreso Panamericano de Ovinocultura, Querétaro, México. 20-22 de marzo de 2013. INTA EEA Bariloche Comunicación Técnica Nro. PA 618
- MUNDAY, B.L.; DUBEY, J.P. 1986. Serology of experimental toxoplasmosis in pregnant ewes and their foetuses. *Aust. Vet. J.* 63: 353-354.
- NAGY, B.; FEKETE, P.Z. 2005. Enterotoxigenic *Escherichia coli* in veterinary medicine. *Int. J. Med. Microbiol.* 295:443-454.
- NAVA-LÓPEZ, V.M.; OLIVA-HERNÁNDEZ, J.; HINOJOSACUPELLAR, J.A. 2006. Mortalidad de los ovinos de pelo en tres épocas climáticas en un rebaño comercial en la Chontalpa, Tabasco, México. *Universidad y Ciencia.* 22:119-129.
- NAVARRO, J.A.; GARCIA DE LA FUENTE, J.N.; SANCHEZ, J.; MARTINEZ, C.M.; BUENDIA, A.J.; GUTIÉRREZ-MARTÍN, C.B.; RODRIGUEZ-FERRI, E.F.; ORTEGA, N.; SALINAS, J. 2004. Kinetics of infection and effects on the placenta of *Chlamydia abortus* in experimentally infected pregnant ewes. *Vet. Pathol.* 41: 498-505.
- NIETFELD, J.C. 2001. Chlamydial infections in small ruminants. *Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract.* 17: 301-314.
- NOAKES, D.E.; PARKINSON, T.J.; ENGLAND, G.C.W. 2001. Arthur's veterinary reproduction and obstetrics. 8a ed. Saunders: London. pp. 526-530

- NOWAK, R.; POINDRON, P. 2006. From birth to colostrum: early steps leading to lamb survival. *Reprod. Nutr. Dev.* 46: 431-446.
- O'HARA, C.M.; BRENNER, F.W.; MILLER, J.M. 2000. Classification, identification, and clinical significance of *Proteus*, *Providencia*, and *Morganella*. *Clin. Microbiol. Rev.* 13: 534-546.
- OLAECHEA, F.; BELLATI, J.; SUAREZ, M.; PUEYO, J.; ROBLES, C. 1983. Mortalidad perinatal de corderos en el oeste de la provincia de Río Negro. II parte. *Rev. Arg. Prod. Anim.* 10: 569-574.
- OLAZÁBAL FENOCHIO, A.; VERA ÁVILA, H.R.; SERAFÍN LÓPEZ, N.; MEDRANO HERNÁNDEZ, J.A.; SÁNCHEZ SAUCEDO, H.; TERRAZAS GARCÍA, A.M. 2013. Reconocimiento mutuo madre-cría en ovinos Columbia con restricción nutricional durante la gestación. *Rev. Mex. Cienc. Pecu.* 4(2): 127-147.
- Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. 2011. FAOSTAT. [Base de datos]. FAO: Roma, It Recuperado de <http://www.fao.org/faostat/es/#data/QC>
- ORIGLIA, J.A.; CADARIO, M.E.; FRUTOS, M.C.; LOPEZ, N.F.; CORVA, S.; UNZAGA, M.F.; PISCOPO, M.V.; CUFFINI, C.; PETRUCCELLI, M.A. 2019. Detection and molecular characterization of *Chlamydia psittaci* and *Chlamydia abortus* in psittacine pet birds in Buenos Aires province, Argentina. *Rev. Argent. Microbiol.* 51(2):130-135.
- OSGERBY, J.C.; WATHES, D.C.; HOWARD, D.; ADD, T.S. 2002. The effect of maternal undernutrition on ovine fetal growth. *J. Endocrinol.* 173: 131-141.
- OTAKA, D.; MARTINS, G.; HAMOND, C.; PENNA, B.; MEDEIROS, M.A.; LILENBAUM, W. 2012. Serology and PCR for bovine leptospirosis: a herd and individual approaches. *Vet. Rec.* 170 (13): 338.
- OZBEY, G.; KILIC, A.; ERTAS, H.B.; MUZ, A. 2004. Random amplified polymorphic DNA (RAPD) analysis of *Pasteurella multocida* and *Mannheimia haemolytica* strains isolated from cattle, sheep and goats. *Vet. Med. Czech. Republic.* 49(3):65-69.
- PANTER, K.E.; BUNCH, T.D.; KEELER, R.F.; SISSON, D.V. 1988. Radio ultrasound observations of the fetotoxic effects in sheep from ingestion *Conium maculatum* (poison-hemlock). *J. Toxicol. Clin. Toxicol.* 26 (3-4): 175-187.
- PAPPAS, G.; PAPADIMITRIOU, P.; SIOZOPOULOU, V.; CHRISTOU, L.; AKRITIDIS, N. 2008. The globalization of leptospirosis: worldwide incidence trends. *Int. J. Infect. Dis.* 12: 351-357.
- PÉREZ, J.; VILLADA GÓMEZ, J.S.; NARAJÓ PÉREZ, O.D.; CASTAÑO, S.V. 2011. Formas alternas de transmisión de *Toxoplasma gondii*. *Biosalud.* 10: 123-137.
- PINHEIRO JUNIOR, J.W.; MOTA, R.A.; PIATTI, R.M.; OLIVEIRA, A.A.; DA SILVA, A.M.; DE OLIVEIRA ABREU, S.R.; ANDERLINI, G.A.; VALENCA, R.M. 2010. Seroprevalence of antibodies to *Chlamydia abortus* in Ovine in the State of Alagoas. *Braz. J. Microbiol.* 41: 358-364.

- POLAND, R. 2004. Animal disease surveillance. NZ Ministry Agric. Forest.: Surveillance 31 (2): 9-11.
- POLLOTT, G.; WILSON, R. 2009. Sheep and goats for diverse products and profits. FAO: Rome. 42p.
- PORTO, W.J.N.; REGIDOR-CERRILLO, J.; KIM, P.C.P.; BENAVIDES, J.; MOTA, R.A.; ORTEGAMORA, L.M. 2016. Experimental caprine neosporosis: the influence of gestational stage on the outcome of infection. *Vet. Res.* 47: 29.
- POUDEL, A.; ELSASSER, T.H.; RAHMAN, K.S.; CHOWDHURY, E.U.; KALTENBOECK, B. 2012. Asymptomatic endemic *Chlamydia pecorum* infections reduce growth rates in calves by up to 48 percent. *PLoS One.* 7:e44961.
- PUGH, D.G. 2011. Sheep and goat medicine. 2a ed., Saunders, Maryland Heights. pp. 233-238.
- QIN, S.Y.; YIN, M.Y.; CONG, W.; ZHOU, D.H.; ZHANG, X.X.; ZHAO, Q.; ZHU, X.Q.; ZHOU, J.Z.; QIAN, A.D. 2014. Seroprevalence and Risk Factors of *Chlamydia abortus* Infection in Tibetan Sheep in Gansu Province, Northwest China. The Scientific World Journal. <https://doi.org/10.1155/2014/193464> .
- QUINN, P.J.; MARKEY, B.K.; LEONARD, F.C.; FITZPATRICK, E.S.; FANNING, S.; HARTIGAN, P.J. 2011. Veterinary microbiology and microbial disease. *Wiley-Blackwell.* pp. 245-257.
- RAD, M.; MOVASSAGHI, A.R.; SHARIFI, K.; NASERI, Z.; SEIFI, H.A. 2011. Two outbreaks of *Pasteurella multocida* septicemia in neonatal lambs. *Comp. Clin. Path.* 20: 57-59.
- RADOSTITS, O.M.; GAY, C.C.; HINCHCLIFF, W.K.; CONSTABLE, D.P. 2006. Veterinary Medicine: A Textbook of the Diseases of Cattle, Sheep, Pigs, Goats and Horses. 10 ed. *Elsevier Health Science.* pp. 1005-1013.
- RAHMAN, K.S.; CHOWDHURY, E.U.; POUDEL, A.; RUETTGER, A.; SACHSE, K.; KALTENBOECK, B. 2015. Defining species-specific immunodominant B cell epitopes for molecular serology of *Chlamydia* species. *Clin. Vaccine. Immunol.* 22: 539-552.
- RAULSTON, J.E. 1997. Response of *Chlamydia trachomatis* serovar E to iron restriction in vitro and evidence for iron-regulated chlamydial proteins. *Infect. Immun.* 65: 4539-4547.
- RAWOOL, D.B.; MALIK, S.V.S.; BARBUDDHE, S.B.; SHAKUNTALA, I.; AURORA, R. 2007. A multiplex PCR for detection of virulence associated genes in *Listeria monocytogenes*. *J. Food Saf.* 9: 56-62.
- RECALT, M.C.; GUAL, F.; SAGÜES, F.; SAUMELL, C. 2016. Descripción de abortos en ovinos por *Toxoplasma gondii*. Tesina de Grado. Facultad de Ciencia Veterinarias UNCPBA: Tandil. 38p.
- REINHOLD, P.; SACHSE, K.; KALTENBOECK, B. 2011. *Chlamydiaceae* in cattle: Commensals, trigger organisms, or pathogens? *Vet. J.* 189 (3): 257-267.

- Resolución 422/2003 [Servicio Nacional de Sanidad y Calidad Agroalimentaria]. Enfermedades animales de denuncia obligatoria. 20-ago-2003. SENASA
- RIAL, C.; PERDOMO, R.; ARTÍA, L.; LLADA, I.; DRAKE, M.; MANES, J.; FERNÁNDEZ, E.; CANTÓN, G. 2018. Distocias en ovinos asociadas a hipomagnesemia en la provincia de Buenos Aires, Argentina. 6° Congreso de la Asociación Uruguaya de Producción Animal. Tacuarembó, 19- 21 de marzo de 2018
- RICE, J.A.; CARRASCO MEDINA, L.; HODGINS, D.C.; SHEWEN, P.E. 2008. *Mannheimia haemolytica* and Bovine respiratory disease. *Anim. Health. Res. Rev.* 8(2):117–128.
- RIET CORREA, F.; SCHILD, A.L.; LEMOS, R.A.A.; BORGES, J.R.J. 2007. Doenças de ruminantes e equídeos vol. 2. 3a ed.. *Palloti*: Santa Maria. pp.582-588.
- RIET CORREA, F.; SIMÕES, S.V.D.; AZEVEDO, E.D. 2011. Principais enfermidades de caprinos e ovinos no semiárido brasileiro. En: XV Congreso Latinoamericano de Buiatría. XXXIX Jornadas Uruguayas de Buiatría, 8-10 junio de 2011
- RISTOW, P.; BOURHY, P.; KERNEIS, S.; SCHMITT, C.; PREVOST, M.C.; LILENBAUM W.; PICARDEAU, M. 2008. Biofilm formation by saprophytic and pathogenic leptospire. *Microbiol.* 154(Pt 5): 1309-1317.
- ROBERTS, S.J. 1986. Veterinary obstetrics and genital diseases theriogenology, 3rd ed., Woodstock, VT. pp. 478-483.
- ROBLES, C.; MARTÍNEZ, A.; ROMERA, A.; BRIHUEGA, B.; CHODILEF, M.; VEGA, C.; GOS, M.L. 2014. Relevamiento sanitario en rebaños ovinos y caprinos de la región sur de la provincia de Río Negro, Argentina. III Congreso Veterinario Patagónico. Neuquén. Argentina 22-23 de noviembre 2014..
- ROBLES, C.; OLAECHEA, F. 2001. Salud y enfermedades de las majadas..En: Borrelli, P.; Oliva G. (eds). Ganadería ovina sustentable en la Patagonia Austral. INTA EEA Santa Cruz.. pp 223-242
- ROBLES, C.A. 2013. Aborto ovino: una guía para el reconocimiento y diagnóstico. Sistema Registral de Salud Animal. Unidad de Salud Animal , INTA. EEA Bariloche. 15p.
- RODOLAKIS, A. 2006. Chlamydirose et fièvre Q, similitudes et différences entre ces deux zoonoses. *Renc. Rech. Ruminants.* 13: 395-402.
- RODOLAKIS, A.; SALINAS, J.; PAPP, J. 1998. Recent advances on ovine chlamydial abortion. *BMC Vet. Res.* 29: 275-288.
- RODOLAKIS, A.; YOUSEF MOHAMAD, K. 2010. Zoonotic potential of Chlamydochlamydia. *Vet. Microbiol.* 140: 382-391.
- ROEST, H.I.; TILBURG, J.J.; VAN DER HOEK, W.; VELLEMA, P.; VAN ZIJDERVELD, F.G.; KLAASSEN, C.H.; RAOULT, D. 2011. The Q fever epidemic in The Netherlands: history, onset, response and reflection. *Epidemiol Infect.* 139(1):1-12

- ROJAS, M.D.; FORT, M.; BETTERMANN, S.; ENTROCASSI, C.; COSTAMAGNA, S.R.; SACHSE, K.; RODRIGUEZ FERMEPIN, M. 2018. Detection of *Chlamydia abortus* in bovine reproductive losses in the province of La Pampa, Argentina. *Rev Argent Microbiol* 50: 269-274.
- ROMANO, J.D.; DE BEAUMONT, C.; CARRASCO, J.A.; EHRENMAN, K.; BAVOIL, P.M.; COPPENS, I. 2013. A novel co-infection model with *Toxoplasma* and *Chlamydia trachomatis* highlights the importance of host cell manipulation for nutrient scavenging. *Cell. Microbiol.* 15: 619-646.
- RUSSELL, R.R. 1955. A vibrio associated with scouring and mortality in hoggets in New Zealand. *NZ Vet. J.* 3: 60-63.
- SACHSE, K.; HOTZEL, H. 2003. Detection and differentiation of *Chlamydiae* by nested PCR. *Methods Mol. Biol.* 216:123-136.
- SAHIN, M.; BEYTUT, E. 2006 Abortions in sheep due to *Listeria ivanovii* in the Kars Region. *Turk J. Vet. Anim. Sci.* 30: 503-506.
- SAHIN, O.; FITZGERALD, C.; STROIKA, S.; ZHAO, S.; SIPPY, R.J.; KWAN, P.; PLUMMER, P.J.; HAN, J.; YAEGER, M.J.; ZHANG, Q. 2012. Molecular evidence for zoonotic transmission of an emergent highly pathogenic *Campylobacter jejuni* clone in the United States. *J. Clin. Microbiol.* 50: 680-687.
- SAHIN, O.; PLUMMER, P.J.; JORDAN, D.M.; SULAJ, K.; PEREIRA, S.; ROBBE-AUSTERMAN, S.; WANG, L.; YAEGER, M.J.; HOFFMAN, L.J.; ZHANG, Q. 2008. Emergence of a tetracycline-resistant *Campylobacter jejuni* clone associated with outbreaks of ovine abortion in the United States. *J. Clin. Microbiol.* 46: 1663-1671.
- SAMMIN, D.J.; MARKEY, B.K.; QUINN, P.J.; MCELROY, M.C.; BASSETT, H.F. 2006. Comparison of fetal and maternal inflammatory responses in the ovine placenta after experimental infection with *Chlamydophila abortus*. *J. Comp. Pathol.* 135: 83-92.
- SANAD, Y.M.; JUNG, K.; KASHOMA, I.; ZHANG, X.; KASSEM, I.I.; SAIF, Y.M.; RAJASHEKARA, G. 2014. Insights into potential pathogenesis mechanisms associated with *Campylobacter jejuni*-induced abortion in ewes. *BMC Vet. Res.* 10: 274.
- SARKARI, B.; ASGARI, Q.; MIRZAEI, S. 2013. Evaluation of immunohistochemistry and PCR in diagnosis of *Toxoplasma* infection in tissues of human aborted fetuses. *Zahedan J. Res. Med. Sci.* 15(12):42.
- SAWALHA, R.M.; CONINGTON, J.; BROTHERSTONE, S.; VILLANUEVA, V. 2007. Analyses of Lamb survival of Scottish Blackface sheep. *Animal.* 1:151-157.
- SCHUST, M.V.; SAMARTINO, L. E.; ROMERO, G.; AUTERI, C.; BRIHUEGA, B.F. 2011. Acreditación de la técnica MAT para la determinación de leptospirosis. VI Congreso Virtual Iberoamericano sobre Gestión de Calidad en Laboratorios.

- SCOTT, P.R.; GESSERT, M.E. 1996. Evaluation of caudal epidural lignocaine injection during dystocia correction in ewes. *Vet. Rec.* 138(1):19-20. doi: 10.1136/vr.138.1.19.
- SEIJO, A.; DRAGHI, G.; DORTA DE MAZZONELLI, G.; MAZZONELLI, J.; STIEBEL, C.; ARGENTO, E. CAMINO, R.; DEODATO, B. 2001. Informe sobre leptospirosis en la República Argentina. Fundación Mundo Sano. Serie Enfermedades Transmisibles. 35 p.
- SÉLLER, L. 1970. Interrelationships between the duration of parturition, postnatal behaviour of ewes and lambs and the incidence of neonatal mortality. *Proc. Aust. Soco Anim. Prod.* 8: 348-352.
- SERGEANT, E.S.G.; LOVE, S.C.J.; MCINNES, A. 1991. Abortions in sheep due to *Listeria ivanovii*. *Aust. Vet. J.* 68 (1): 39. doi// 10.1111/j.1751-0813.1991.tb09846.x
- SERVICIO METEOROLÓGICO NACIONAL. 2018. Informe sobre la temperatura y precipitación a nivel nacional y provincial en Argentina (agosto 2018). SMN. Ministerio de Defensa de la Nación Argentina. Recuperado de: <http://repositorio.smn.gob.ar/bitstream/handle/20.500.12160/833/0041CL2018.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- SERVICIO METEOROLÓGICO NACIONAL. 2018. Informe sobre la temperatura y precipitación a nivel nacional y provincial en Argentina (julio 2018). SMN. Ministerio de Defensa de la Nación Argentina. Recuperado de: <http://repositorio.smn.gob.ar/bitstream/handle/20.500.12160/831/0039CL2018.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- SERVICIO METEOROLÓGICO NACIONAL. 2019. Informe sobre la temperatura y precipitación a nivel nacional y provincial en Argentina (agosto 2019). SMN. Ministerio de Defensa de la Nación Argentina. Recuperado de: [https://www.smn.gob.ar/sites/default/files/temperaturayprecipitacion\\_provincias\\_AGOSTO2019.pdf](https://www.smn.gob.ar/sites/default/files/temperaturayprecipitacion_provincias_AGOSTO2019.pdf)
- SERVICIO METEOROLÓGICO NACIONAL. 2019. Informe sobre la temperatura y precipitación a nivel nacional y provincial en Argentina (julio 2019). SMN. Ministerio de Defensa de la Nación Argentina. Recuperado de: [https://www.smn.gob.ar/sites/default/files/temperaturayprecipitacion\\_provincias\\_JULIO2019.pdf](https://www.smn.gob.ar/sites/default/files/temperaturayprecipitacion_provincias_JULIO2019.pdf)
- SHARMA, A.; KUMAR, P.; SINGH, M.; VASISHTA, N. 2014. Retrospective Analysis of Dystocia in Small Ruminants. *Intas. Polivet.* 15 (2): 287-289.
- SHARMA, D.; SHARMA, P.; SONI, P. 2017. First case report of *Providencia rettgeri* neonatal sepsis. *BMC Res. Notes.* 10: 1-3.
- SHARMA, M.; KUMAR Bhatta, M.; CHAND KATOCH, R.; ANDERSEN, A.A. 2008. A field investigation of bacterial etiology of abortions among migratory sheep and goats in North-West hill states of India. *Vet. Arh.* 78 (1): 65-71.
- SIBLEY, L.D.; KHAN, A.; AJIOKA, J.W.; ROSENTHAL, B.M. 2009. Genetic diversity of *Toxoplasma gondii* in animals and humans. *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B. Biol. Sci.* 364(1530): 2749-2761.

- SILVA, É.F.; BROD, C.S.; CERQUEIRA, G.M.; BOURSCHEIDT, D.; SEYFFERT, N.; QUEIROZ, A.; SANTOS, C.S.; KO, A.I.; DELLAGOSTIN, O.A. 2007. Isolation of *Leptospira noguchii* from sheep. *Vet. Microbiol.* 121: 144-149.
- SIMONETTI, L.; LYNCH, G.M.; GANCHEGUI, M.; MORMENEO, I.; RODRÍGUEZ IGLESIAS, R.M. 2009. Pautas de comportamiento en corderos Corriedale durante sus primeras horas de vida: influencia del peso al nacer y de las condiciones climáticas. Proc. VI Congreso de la Asociación Latinoamericana de Especialistas en Pequeños Rumiantes y Camélidos Sudamericanos (ALEPRyCS), Querétaro, México, pp. 472-476
- SINGH, J.; KULSHRESHTHA, R. C.; CHANDIRAMAN, N. K.; VASUDEVAN, B. 1983. An outbreak of leptospirosis in Corriedale sheep in India. *Indian J. Anim. Sci.* 53(8): 912-914.
- SKIRROW, MB. 1994. Diseases due to *Campylobacter*, *Helicobacter* and related bacteria. *J. Comp. Pathol.* 111: 113-149.
- SMIBERT, R.M. 1969. *Vibrio fetus* var *intestinalis* isolated from intestinal content of birds. *Am J Vet Res.* 30:1437-1442.
- SMITH, B.P. 2010. Large Animal Internal Medicine. Elsevier. pp. 1520-1526.
- SMYTHE, L.D.; SMITH, I.L.; SMITH, G.A.; DOHNT, M.F.; SYMONDS, M.L.; BARNETT, L.J.; MCKAY, D.B. 2002. A quantitative PCR (TaqMan) assay for pathogenic *Leptospira* spp. *BMC Infect. Dis.* 2: 13.
- SNAPIR, Y.M.; VAISBEIN, E.; NASSAR, F. 2006. Low virulence but potentially fatal outcome-*Listeria ivanovii*. *Eur. J. Intern. Med.* 17:286-287.
- SONGER, J.G.; POST, K.W. 2005. Veterinary microbiology. Bacterial and fungal agents of animal disease. *Elsevier Saunders: St Louis:* pp. 84-91.
- SOUTHEY, B.R.; RODRIGUEZ-ZAS, S.L.; LEYMASTER, K.A. 2004. Competing risks analysis of lamb mortality in a terminal sire composite population. *Anim. Sci. J.* 82:2892-2899.
- STAMP, J.T.; MCEWEN, A.D.; WATT, J.A.A.; NISBET, D.I. 1950. Enzootic abortion in ewes. I. Transmission of the disease. *Vet. Rec.* 62: 251-254.
- STANLEY, K.; JONES, K. 2003. Cattle and sheep farms as reservoirs of *Campylobacter*. *J. Appl. Microbiol.* 94 (Suppl):104S-113S.
- STANLEY, K.N.; WALLACE, J.S.; CURRIE, J.E.; DIGGLE, P.J.; JONES, K. 1998. Seasonal variation of thermophilic campylobacters in lambs at slaughter. *J. Appl. Microbiol.* 84: 1111-1116.
- STANSFIELD, D.G.; HUNT, B.; KEMBLE, P.R. 1986. *Campylobacter gastroenteritis* in fattening lambs. *Vet. Rec.* 118: 210-211.
- STEPHENSON, T.; BUDGE, H.; MOSTYN, A.; PEARCE, S.; WEBB, R.; SYMONDS, M.E. 2001. Fetal and neonatal adipose maturation: a primary site of cytokine and cytokine-receptor action. *Biochem. Soc. Trans.* 29(2): 80-85.



- STORZ, J.; KALTENBOECK, B. 1993. Diversity of *Chlamydia*-induced diseases. En: WOLDEHIWET, Z.; RISTIC, M. Rickettsial and chlamydial diseases of domestic animals. Pergamon Press: Oxford (UK),. pp. 363-393.
- SUAREZ, V.H.; Buseti, M.R.; ORTELLADO REAL, M. 2011. Prevalencia de enfermedades y manejo sanitario de la producción ovina para lana y carne en La Pampa. *Vet Argentina*, 28( 284).
- SUBHARAT, S.; WILSON, P.R.; HEUER, C.; COLLINS-EMERSON, J.M. 2011. Vaccination for leptospirosis improved the weaning percentage of 2-year-old farmed red deer hinds in New Zealand. *N. Z. Vet. J.* 59: 191-196.
- SUEPAUL, S.M.; CARRINGTON, C.V.; CAMPBELL, M., BORDE, G.; ADESIYUN, A.A. 2011. Seroepidemiology of leptospirosis in livestock in Trinidad. *Trop. Anim. Health Prod.* 43: 367-375.
- SZEREDI, L.; JÁNOSI, S.; TENK, M.; TEKES, L.; BOZSÓ, M.; DEIM, Z.; MOLNÁR, T. 2006. Epidemiological and pathological study on the causes of abortion in sheep and goats in Hungary (1998-2005). *Acta Vet Hung.* 54(4): 503-515.
- TEÓFILO, S.G. 2002. Patología y manejo del cordero recién nacido: Congreso de la Sociedad Española de Medicina Interna. Patología Animal. Zaragoza España. pp 63-65.
- THOMPSON, D.A.J.; FRASSER, J.; GILMOUR, J.L. 1977. Serotypes of *Pasteurella haemolytica* in ovine pasteurellosis. *Res. Vet. Sci.* 22:130-131.
- TORTORA, P.J.L. 2008. Tecnologías para ovinocultores. Fortalecimiento del sistema producto ovinos. SAGARPA- Asociación Mexicana de Criadores de Ovinos. pp 207-210.
- TOUFAILY, M.H.; WESTGATE, M.N.; LIN, A.E.; HOLMES, L.B. 2018. Causes of Congenital Malformations. *Birth Defects Research.* 110 (2): 87-91. doi:10.1002/bdr2.1105
- TURKSON, P.K.; SUALISU, M. 2005. Risk factors for lamb mortality in Sahelian sheep on a breeding station in Ghana. *Trop. Anim. Health Prod.* 37:49-64.
- VAN DEN BROM, R; LIEVAART PETERSON, K.; LUTTIKHOLT, S.; PEPERKAMP, K.; WOUDA, W.; VELLEMA, P. 2012. Abortion in small ruminants in the Netherlands between 2006 and 2011. *Tijdschr Diergeneeskd.* 137(7): 450-457.
- VAN DER LINDEN, B. 2013. Abortion in sheep and goats. *Tijdschr. Diergeneeskd.* 138 (2): 84.
- VÁZQUEZ-BOLAND, J.A.; KUHN, M.; BERCHE, P.; CHAKRABORTY, T.; DOMINGUEZ-BERNAL, G.; GOEBEL, W.; GONZALEZ-ZORN, B.; WEHLAND, J.; KREFT, J. 2001. Listeria pathogenesis and molecular virulence determinants. *Clin. Microbiol. Rev.* 14: 584-640.
- VELLEMA, P.; VAN DEN BROM, R. 2014. The rise and control of the 2007-2012 human Q fever outbreaks in the Netherlands. *Small Rumin. Res.* 118: 69-78.

- VERMUNT, J.J.; WEST, D.M.; COOKE, M.M.; ALLEY, M.R.; COLLINS-EMERSON, J. 1994. Observations on three outbreaks of *Leptospira interrogans* serovar pomona infection in lambs. *N. Z. Vet. J.* 42 (4): 133-136. doi//10.1080/00480169.1994.35803
- VIDIĆ, B.; SAVIĆ JEVDENIĆ, S.; MALJKOVIĆ, M.; GRGIĆ, Ž.; BUGARSKI, D. 2007. Infectious abortion in sheep. *Biotechnol. Anim. Husb.* 23 (5-6): 383-389.
- VOGEL, M.I. 2011. Chlamydienmonitoring in ausgewählten Milchkühe haltenden Betrieben Nordrhein-Westfalens. Zugl.: Berlin, Freie Univ., Diss. Dissertation, Freie Universität Berlin. 170 p.
- WANG, T.K.; AHN, Y.; DUNLOP, J. 2014. *Providencia rettgeri* peritonitis in a patient on peritoneal dialysis with perforated appendicitis. *Perit. Dial. Int.* 34(5):569-70.
- WASIŃSKI, B.; DUTKIEWICZ, J. 2013. Leptospirosis-current risk factors connected with human activity and the environment. *Ann. Agric. Environ. Med.* 20: 239-244.
- WEISSMANN J. 2003. Presumptive *Toxoplasma gondii* abortion in a sheep. *The Can. Vet. J.* 44(4): 322-324.
- WEST, D.M.; BRUÈRE, A.N.; RIDLER, A.L. 2002. The sheep: Health, disease and production, 2da ed., Foundation for Continuing Education of the New Zealand Veterinary Association, Palmerston North. 223 p.
- WESTERMANN, T.; JENKINS, C.; ONIZAWA, E.; GESTIER, S.; MCNALLY, J.; KIRKLAND, P.; ZHANG, J.; BOGEMA, D.; MANNING, L.K.; WALKER, K.; PINCZOWSKI, P. 2021. *Chlamydia pecorum*-Associated Sporadic Ovine Abortion. *Vet. Pathol.* 58(1): 114-122.
- WILSMORE, A.J.; IZZARD, K.A.; WILSMORE, B.C.; DAGNALL, G.J. 1990. Breeding performance of sheep infected with *Chlamydia psittaci* (ovis) during their preceding pregnancy. *Vet. Rec.* 126: 40-41.
- WILSON, K.; LIVINGSTONE, M.; LONGBOTTOM, D. 2009. Comparative evaluation of eight serological assays for diagnosing *Chlamydia abortus* infection in sheep. *Vet. Microbiol.* 135: 38-45.
- YAEGER, M.J.; HOLLER, L.D. 2007. Bacterial causes of bovine infertility and abortion. En: YOUNGQUIST, R.S.; THRELFALL, W.R. Current therapy in large animal theriogenology. 2nd ed. Saunders, Philadelphia, W.B: USA. pp. 389-398.
- ZAMIT SUÁREZ, M; LÓPEZ CORREA, R. 2009. Factores que afectan la duración del parto en ovejas y el posterior vigor de los corderos. Universidad de la República Facultad de Veterinaria, Montevideo Uruguay. 93 p.
- ZHU, M.J.; FORD, S.P.; MEANS, W.J.; HESS, B.W.; NATHANIELSZ, P.W.; DU, M. 2006. Maternal nutrient restriction affects properties of skeletal muscle in offspring. *J. Physiol.* 575: 241-250.

ZWEIFEL, C.; ZYCHOWSKA, M.A.; STEPHAN, R. 2004. Prevalence and characteristics of Shiga toxin-producing *Escherichia coli*, *Salmonella* spp. and *Campylobacter* spp. isolated from slaughtered sheep in Switzerland. *Int. J. Food Microbiol.* 92: 45-53.