Universidad Autónoma de Sinaloa

Colegio en Ciencias Agropecuarias

Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia

Doctorado en Ciencias Agropecuarias

TESIS:

"Prevalencia de Chlamydia abortus en cabras con problemas de aborto en la zona centro de Sinaloa, México"

Que para obtener el grado de
Doctora en Ciencias Agropecuarias

PRESENTA:
M. C. Rebeca Castro Flores

DIRECTORA DE TESIS:
Dra. Soila Maribel Gaxiola Camacho

CO-DIRECTOR DE TESIS:
Dr. Efrén Díaz Aparicio

ASESORES:
Dra. Idalia Enríquez Verdugo
Dra. Nohemí Castro del Campo
Dr. Miguel Ángel Rodríguez Gaxiola

Culiacán, Sinaloa, México; a 07 de Diciembre de 2020.

ESTA TESIS FUE REALIZADA POR **REBECA CASTRO FLORES**, BAJO LA DIRECCIÓN DEL CONSEJO PARTICULAR QUE SE INDICA, Y HA SIDO APROBADA POR EL MISMO, COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL GRADO DE:

DOCTORA EN CIENCIAS AGROPECUARIAS

CONSEJO PARTICULAR

DIRECTORA _Dra. Soila Maribel Gaxiola Camacho_
GRADO. NOMBRE COMPLETO

CO-DIRECTOR _Dr. Efrén Díaz Aparicio_____
GRADO. NOMBRE COMPLETO

ASESORA _Dra. Idalia Enríquez Verdugo_
GRADO. NOMBRE COMPLETO

ASESORA _Dra. Nohemí Castro Del Campo
GRADO. NOMBRE COMPLETO

ASESOR Dr. Miguel Ángel Rodríguez Gaxiola
GRADO. NOMBRE COMPLETO

CULIACÁN, SINALOA, DICIEMBRE DE 2020.

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SINALOA
COLEGIO DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA
FACULTAD DE AGRONOMÍA CULIACÁN
FACULTAD DE AGRONOMÍA VALLE DEL FUERTE
FACULTAD DE CIENCIAS DEL MAR
FACULTAD DE AGRONOMÍA VALLE DEL CARRIZO

En la Ciudad de Culiacán Rosales, Sinaloa, el día 21 de Diciembre del año 2020, el que suscribe Rebeca Castro Flores, alumno del Programa de Doctorado en Ciencias Agropecuarias, con número de cuenta 0601856-4, de la Unidad Académica Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, del Colegio de Ciencias Agropecuarias de la UAS, manifiesta que es autor intelectual del presente trabajo de Tesis bajo la dirección de Dra. Soila Maribel Gaxiola Camacho y del Dr. Efrén Díaz Aparicio y cede los derechos del trabajo titulado "Prevalencia *Chlamydia abortus* en cabras con problemas de aborto en la zona centro de Sinaloa, México", a la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, del Colegio de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Autónoma de Sinaloa, para su difusión, con fines académicos y de investigación por medios impresos y digitales, todo esto en apego al artículo 27 de la Ley Federal de Derechos de Autor.

La Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos protege el contenido de la presente tesis. Los usuarios de la información contenida en ella deberán citar obligatoriamente la tesis como fuente, dónde la obtuvo y mencionar al autor intelectual. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

ATENTAMENTE

Rebeca Castro F

Rebeca Castro Flores

CORREO ELECTRÓNICO: rebeca_ca12@hotmail.com
CURP: CAFR881114MTSSLB07

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SINALOA
DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

REPOSITORIO INSTITUCIONAL

UAS- Dirección General de Bibliotecas

Repositorio Institucional

Restricciones de uso

Todo el material contenido en la presente tesis está protegido por la Ley Federal de Derechos de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

Queda prohibido la reproducción parcial o total de esta tesis. El uso de imágenes, tablas, gráficas, texto y demás material que sea objeto de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente correctamente mencionando al o los autores del presente estudio empírico. Cualquier uso distinto, como el lucro, reproducción, edición o modificación sin autorización expresa de quienes gozan de la propiedad intelectual, será perseguido y sancionado por el Instituto Nacional de Derechos de Autor.

Esta obra está bajo una Licencia Creative Commons Atribución-No Comercial-Compartir Igual, 4.0 Internacional.

CONTENIDO

1 CAPÍTULO 1. INTRODUCCIÓN Y REVISIÓN DE LITERATURA 11

1.1 INTRODUCCIÓN 11

1.2 REVISIÓN DE LITERATURA 12

1.2.1 Transmisión 12

1.2.2 Patogenía 13

1.2.3 Signos clínicos y lesiones 14

1.2.4 Ciclo de vida 15

1.2.5 Diagnóstico 18

2 CAPÍTULO 2. PREVALENCIA GLOBAL, REGIONAL Y NACIONAL DE CLAMIDIOSIS EN PEQUEÑOS RUMIANTES: REVISIÓN SISTEMÁTICA Y META-ANÁLISIS 20

2.1 INTRODUCCIÓN 20

2.2 METODOLOGÍA 21

2.2.1 Protocolo y preguntas del estudio 21

2.2.2 Criterios de elegibilidad 22

2.2.3 Fuentes de Información y estrategias de búsqueda 22

2.2.4 Proceso de selección de estudios 23

2.2.5 Proceso de colección de información y datos extraídos 24

2.2.6 Evaluación de riesgo de sesgo 24

2.2.7 Resumen de evidencia y análisis estadístico de datos 25

2.3 RESULTADOS 26

2.3.1 Selección de estudios 26

2.3.2 Características generales de los estudios 28

2.3.1 Evaluación de riesgo de sesgo 29

2.3.2 Características individuales de los estudios que evaluaron ovinos 30

2.3.3 Prevalencia de C. abortus en ovinos a nivel global, regional y nacional 31

2.3.4 Características individuales de los estudios que evaluaron caprinos 34
2.3.5 Prevalencia de C. abortus en caprinos a nivel global, regional y nacional 35

2.4 DISCUSIÓN 38

3 CAPÍTULO 3. PREVALENCIA DE *CHLAMYDIA ABORTUS* EN CABRAS CON PROBLEMAS DE ABORTO EN LA ZONA CENTRO DE SINALOA, MÉXICO 42

3.1 INTRODUCCIÓN 42

3.2 MATERIAL Y MÉTODOS 44
3.2.1 Lugar de estudio, animales y diseño del estudio 44
3.2.2 Muestras de estudio 45
3.2.3 Aislamiento e identificación de *Chlamydia abortus* en cultivo celular 46
3.2.4 Determinación de cuerpos de inclusión 47
3.2.5 Identificación de *Chlamydia abortus* mediante PCR 47
3.2.6 Análisis estadístico 48

3.3 RESULTADOS Y DISCUSIÓN 49
3.3.1 Primera etapa: estudio de prevalencia 49
3.3.2 Segunda etapa: estudio de seguimiento 54

4 CAPÍTULO 4. CONCLUSIONES 59

5 CAPÍTULO 5. LITERATURA CITADA 59

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro	Capítulo	Titulo	Página
1	1	Clasificación de la familia *Chlamydiaceae*	11
1	2	Prevalencia de *C. abortus* en ovinos y caprinos de acuerdo con regiones de la OMS.	34
1	3	Resultados del estudio de prevalencia de *Chlamydia abortus* en un rebaño caprino con problemas de aborto en la zona centro de Sinaloa, México.	50
2	3	Resultados de la confirmación por PCR de la presencia de *Chlamydia abortus* en muestras positivas identificadas mediante aislamiento.	51
3	3	Resultados del estudio longitudinal de 32 hembras durante dos períodos consecutivos de partos.	55

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura	Capítulo	Título	Página
1	1	Inclusión intracitoplasmática causada por *Chlamydophila abortus* en célula de fibroblasto de ratón L929.	17
2	1	Ciclo de desarrollo de *Chlamydophila abortus*	17
1	2	Diagrama de flujo PRISMA del proceso de identificación, selección y elegibilidad de los estudios incluidos en el meta-análisis.	27
2	2	A) Distribución geográfica del número de estudios a nivel nacional, B) Porcentaje de estudios por continente, C) Distribución acumulada de los estudios de 1980-2020 y D) Porcentaje de estudios de acuerdo con la especie evaluada.	30
3	2	Forest plot del meta-análisis de la prevalencia de *C. abortus* en 59 estudios que incluyeron ovinos.	33
4	2	Forest plot del meta-análisis de la prevalencia de *C. abortus* en 42 estudios que incluyeron caprinos.	36
5	2	Prevalencia nacional de *C. abortus* en A) ovinos y B) caprinos.	37
1	3	Imagen representativa de la identificación del gen POMP 90-91-B de *C. abortus* en muestras de hembras positivas a *C. abortus.*	53
2	3	Patrón de asociación entre las características de las hembras evaluadas.A) Valores de carga de las variables y B) Puntuaciones individuales de las cabras evaluadas	56
3	3	Valores estimados de odds ratio obtenidos mediante análisis de regresión logística binaria.	58

RESUMEN

Se realizó una revisión sistemática y meta-análisis para estimar la prevalencia de clamidiosis en pequeños rumiantes. Mediante búsquedas en bases de datos electrónicas se localizaron estudios que reportaron la presencia de *C. abortus* en ovinos y caprinos y se utilizó un meta-análisis para estimar la prevalencia a nivel global, regional y nacional por especie. Se seleccionaron 79 publicaciones, las cuales incluyeron 59 estudios en ovinos y 42 estudios en caprinos y que fueron publicados de 1989-2020 en 34 países de los cinco continentes. La mayoría de los estudios tuvieron un diseño de tipo transversal y fueron publicados en inglés, además no presentaron información específica sobre las características de la población que evaluaron. La mitad de los estudios incluyeron animales con historial de abortos o fallas reproductivas y utilizaron ELISA y confirmación con PCR como las principales técnicas diagnósticas. Se evaluaron 28,212 muestras en ovinos y se encontró una prevalencia global de 21.4% de clamidiosis (IC al 95%: 17.8 – 25.3) y en caprinos se estimó una prevalencia global de 15.1% (11.1 – 19.5) en 13,835 muestras. Se encontró heterogeneidad a nivel regional y nacional: en ovinos, *C. abortus* fue más prevalente en los estudios de África Subsahariana, Medio Oriente y África del Norte y Europa y Asia Central; en caprinos, los estudios de Medio Oriente y África del Norte y Norteamérica presentaron la mayor prevalencia. Nuestros resultados demuestran que la clamidiosis es más prevalente en ovinos que en caprinos y muestran una distribución global de la infección, aunque heterogénea entre regiones y países.

Para determinar la prevalencia de clamidiosis en un rebaño caprino con problemas de aborto en el centro de Sinaloa, México, se realizó un estudio transversal que incluyó a siete machos y 135 hembras con parto o aborto reciente. Adicionalmente, 32 de las 135 hembras fueron seleccionadas para realizar un estudio longitudinal por dos períodos consecutivos de partos/abortos. *Chlamydia abortus* se identificó mediante aislamiento y las muestras positivas se confirmaron mediante PCR. La prevalencia de clamidiosis fue de 55.6 % en las hembras (75/135), en las cuales se presentaron 69 partos y seis abortos. Únicamente 10/75 muestras positivas fueron

confirmadas por PCR. En los machos, 2/7 muestras resultaron positivas mediante aislamiento. En el estudio longitudinal, se incrementó en 41.6 veces la posibilidad (OR=0.024, IC 95 %: 0.002-0.299) de tener un resultado positivo durante el segundo período de evaluación. De acuerdo con el análisis multivariado, se presentó una asociación entre la positividad a clamidiosis, la edad de las hembras y el número de partos. Estos resultados representan el primer reporte de *C. abortus* en un rebaño caprino del estado de Sinaloa. Se requieren más estudios que evaluen la prevalencia y distribución de *C. abortus* en México para comprender mejor el impacto de la clamidiosis sobre la salud y producción animal.

P**alabras claves**: Aborto, Bacteria patógena, Clamidiosis, Pequeños rumiantes, Reproducción.

ABSTRACT

We conducted a systematic review and meta-analysis to estimate chlamydiosis prevalence in small ruminants. We searched electronic databases to retrieve relevant studies reporting the presence of *C. abortus* in ovine and caprine and used a meta-analysis to estimate the prevalence of chlamydiosis at the global, regional, and national level per species. In total, 79 publications that included 59 studies in ovine and 42 studies in caprine were selected, the studies were published in 1989-2020 and were conducted in 34 countries from all the continents. Most of the studies had a cross-sectional design, were published in English, and did not report the main characteristics of the assessed population. Half of the studies included females with a history of abortion or reproductive failure and used ELISA and PCR confirmation as the main diagnostic techniques. At the global level, the pooled prevalence of chlamydiosis in 28,212 samples from ovine was 21.4% (95% CI: 17.8 – 25.3) and 15.1% (11.1 – 19.5) in 13,835 samples from caprine. There was a heterogeneous prevalence both at the regional and national levels. In ovine, *C. abortus* was more prevalent in studies from Sub-saharan Africa, the Middle East and North Africa, and Europe and Central Asia; whereas in caprine, *Chlamydia* was more prevalent in studies from the Middle East and North Africa and North America. Our results demonstrate that chlamydiosis is more prevalent in ovine than in caprine and also indicate a global distribution for the infection, though with heterogeneity at regional and country levels.

A cross-sectional study that included seven bucks and 132 goats with recent parturition or abortion was conducted to assess the prevalence of chlamydiosis in a caprine herd showing abortion issues in Central Sinaloa, Mexico. Additionally, 32 out of the 135 goats were selected to perform a longitudinal study during two consecutive periods of kidding/abortions. *Chlamydia abortus* was detected by bacterial isolation and the positive samples were confirmed by PCR. In does, chlamydiosis prevalence was 55.6 % (75/135; 69 parturitions and six abortions). Ten out of 75 positive isolations were confirmed by PCR. In bucks, two out of seven samples tested positive for bacterial isolation. In the longitudinal study, the likelihood

of showing a positive result increased 41.6 times (OR=0.024, 95 % CI: 0.002 to 0.299) during the second period of evaluation. According to multivariate analysis, chlamydiosis positivity, lower age of goats, and a reduced number of parturitions were associated. The results presented herein represent the first report of *C. abortus* in a caprine herd in the state of Sinaloa. More studies focused on the prevalence and distribution of *C. abortus* in Mexico are needed to improve the knowledge regarding the impact of chlamydiosis on animal health and production.

Keywords: Abortion; Chlamydiosis; Pathogen bacterium, Small ruminants; Reproduction.

CAPÍTULO 1. INTRODUCCIÓN Y REVISIÓN DE LITERATURA

2.1 INTRODUCCIÓN

El aborto enzoótico de los pequeños rumiantes (AEPR) es una enfermedad infecciosa, que produce abortos en el último tercio de la gestación o el nacimiento de crías débiles que generalmente mueren durante los primeros días de vida, es causada por *Chlamydophila abortus* y afecta a ovinos, caprinos y bovinos(Longbottom y Coulter, 2003) .

En 1966 se demostró que *Chlamydiae* no era un virus sino una bacteria, ya que poseía RNA y DNA, tiene un ciclo de desarrollo muy diferente al de los virus, su pared celular es similar a bacterias Gram negativas y posee ribosomas con susceptibilidad a antibióticos, un rasgo característico de las procariontes(Gyles *et al.*, 2008). En estos años Chlamydiae fue diferenciada en dos especies: *Chlamydia trachomatis* y *Chlamydia psittaci*, quedando el AEO en este último grupo (Entrican *et al.*, 2001). En 1999 la familia Chlamydiaceae fue reclasificada en dos nuevos géneros y nueve especies basado en un análisis secuencial de sus genes rRNA 16S y 23S (Everett *et al.*, 1999). Los dos nuevos géneros fueron *Chlamydia* y *Chlamydophila* **(Cuadro 1)**.

Cuadro 1. Clasificación de la familia *Chlamydiaceae*

Chlamydia		***Chlamydophila***	
C. trachomatis	Humanos	*C. psittaci*	Aves
C. suis	Porcinos	*C. felis*	Gatos
C. muridarum	Ratones	*C. abortus*	Ovinos, Caprinos, Bovinos
		C. caviae	Cuyes
		C. pecorum	Ovinos, Bovinos
		C. pneumoniae	Humano

En México la enfermedad es considerada endémica desde el 2016, por lo que se encuentra en el grupo 3 de las enfermedades endémicas y plagas exóticas de reporte obligatorio mensual ante las autoridades zoosanitarias (SAGARPA, 2016). De acuerdo a las autoridades de salud animal y sanidad del país, la infección causada por *C. abortus* se ubica dentro de un grupo de enfermedades de bajo riesgo desde el punto de vista epidemiológico, económico, de salud pública y de comercio (SAGARPA, 2016).

En México se han realizado diversos reportes de la enfermedad en pequeños rumiantes, en 1996 se realizó el aislamiento de la bacteria en rebaños ovinos de cinco estados del país (Escalante-Ochoa *et al.*, 1996) y en 1997 se hizo el primer reporte de la bacteria en caprinos (Escalante-Ochoa *et al.*, 1997b). Posteriormente se realizaron estudios de esta enfermedad en caprinos, en 2005 se demostró la presencia de la bacteria en el estado de Michoacán en donde se logró el aislamiento de la bacteria en heces (Lazcano, 2006). En 2008 se hizo un estudio serológico en rebaños caprinos lecheros de seis estados del país, encontrando anticuerpos contra la bacteria (Mora *et al.*, 2008)
En 2001 se demostró la participación *Chlamydophila* spp en un proceso zoonótico en México a partir de ganado caprino infectado con este agente (Escalante-Ochoa *et al.*, 2001).

2.2 REVISIÓN DE LITERATURA

2.2.1 Transmisión

Una vez que se da el parto o el aborto, un gran número de bacterias son expulsadas en descargas vaginales, en la placenta y en la piel de los cabritos abortados (Longbottom y Coulter, 2003, Rodolakis, 2001). Estos son los principales factores que contribuyen a la contaminación del ambiente (alimento, agua y suelo), provocando la transmisión oral o por aerosoles a otros animales, así como a los humanos (Longbottom y Coulter, 2003). Cantidades menores de la bacteria pueden ser eliminadas por orina, leche y heces durante varios días después del aborto (Rodolakis, 2001).

Las descargas vaginales se secan después de 7 – 14 días y el futuro potencial reproductivo del animal no se ve afectado, una vez que la cabra aborta como consecuencia de esta enfermedad no vuelve a abortar (Rodolakis, 2001). Aunque esta inmunidad no es completa ya que algunos animales, pueden excretar el microorganismo en su siguiente estro y parto (Rodolakis, 2001).

Las cabras con menos de 100 días de gestación son más susceptibles que aquellas que están al final de la gestación o de las que no están gestantes (Rodolakis, 2001). Las cabras pueden empezar a infectarse a cualquier edad y durante cualquier temporada, pero el periodo de riesgo más importante es durante la época de partos. Hay poca evidencia que sugiera que AEPR pueda ser transmitida por vía venérea (Longbottom y Coulter, 2003). Cabras jóvenes nacidas de madres infectadas pueden mantener la infección en el rebaño o transmitirlo a otros (Rodolakis, 2001).

En un rebaño donde no se ha presentado la enfermedad, la tasa de abortos en el primer año posterior a la introducción de reemplazos infectados suele ser baja. Sin embargo, en los siguientes 2 ó 3 años la tasa de abortos es alta; frecuentemente 30% hasta un 90% de las cabras gestantes abortan y la producción de leche disminuye. Después la enfermedad tiene una incidencia anual de aborto de 5 a 10%, esto sucede por 2 ó 3 años hasta que ocurre de nuevo una epidemia, siendo afectadas la hembras primíparas(Longbottom y Coulter, 2003, Rodolakis, 2001, Seth-Smith *et al.*, 2017).

2.2.2 Patogenía

Estudios realizados en la especie ovina indican a las tonsilas como el sitio primario de infección y multiplicación de la bacteria, de donde es diseminada por sangre o linfa a órganos de colonización secundaria como el hígado, bazo y pulmón, en donde permanece en estado latente (Jones *et al.*, 1995, Papp *et al.*, 1993).

En hembras no gestantes se establece una infección latente, posiblemente en tejido linfoide, en un proceso que es mediado por citocinas, particularmente INFγ (Longbottom y Coulter, 2003). Durante este tiempo el organismo es indetectable a

cualquier prueba diagnóstica, incluyendo serología(Entrican *et al.*, 2001). En la siguiente gestación la modulación inmune libera a la bacteria de su estado de supresión permitiendo su multiplicación en los órganos de colonización secundaria, provocando una segunda bacteremia que inicia con la infección de la placenta(Longbottom y Coulter, 2003, Sachse *et al.*, 2009).

Alrededor del día 60 de gestación se desarrollan hematomas maternos en la interfase materno-fetal en los hilios de cada placentoma. Se presume que estos hematomas podrían ser el microambiente donde las clamidias presentes en sangre materna entre en contacto directo con el epitelio coriónico, transmitiendo la infección de la madre al feto, aunque hasta el día 90 se observan los cambios patológicos debido al crecimiento excesivo de la bacteria, provocando el aborto en las últimas semanas de la gestación(Buxton *et al.*, 2002, Entrican *et al.*, 2001, Gyles *et al.*, 2008).

2.2.3 Signos clínicos y lesiones

Esta enfermedad se caracteriza por provocar abortos en el último tercio de la gestación o el nacimiento de crías débiles las cuales mueren dentro de las primeras horas de vida, aun cuando este reciba cuidados médicos (Entrican *et al.*, 2001, Longbottom y Coulter, 2003).

El aborto ocurre generalmente sin una signología previa, aunque se pueden presentar cambios de comportamiento y descargas vaginales 48 horas previas al aborto (Entrican *et al.*, 2001, Longbottom y Coulter, 2003).

El aborto ocurre principalmente en los últimos dos meses de la gestación y especialmente en las últimas dos semanas (Smith y Sherman, 2009). En rebaños donde la enfermedad es endémica las cabras primíparas son las más susceptibles. Pero si la enfermedad es nueva en el rebaño los abortos ocurren en cabras de todas las edades (Smith y Sherman, 2009).

Los animales abortados pueden tener una apariencia normal o mostrar un grado de edema subcutáneo. No hay lesiones macroscópicas específicas y el

cabrito puede estar cubierto de un material de color café. Además del edema difuso, también se observa fluidos sanguinolentos en la cavidad abdominal y pleural, así como petequias en la lengua, cavidad bucal y en las pezuñas (Longbottom y Coulter, 2003, Rodolakis, 2001).

Las membranas placentarias se presentan engrosadas y con un color rojizo amarillento, también se puede observar un exudado vaginal infeccioso de color rosa sucio durante 7 a 10 días después del aborto. En las cabras y en los bovinos se observa una frecuencia mayor de retención placentaria, endometritis y vaginitis, aunque esto no es usual (Longbottom y Coulter, 2003, Rodolakis, 2001).

El aborto enzoótico de los pequeños rumiantes es una zoonosis, se ha descrito que afecta a las mujeres embarazadas principalmente después de la exposición con cabras y borregos infectados durante la temporada de partos. *Chlamydophila abortus* tiene la habilidad de colonizar la placenta humana. La transmisión de la enfermedad a humanos se ha reportado en el Reino Unidos, Francia, Estados Unidos, Holanda y Suiza. Si la infección ocurre en el primer trimestre del embarazo se presentan abortos espontáneos y si la infección ocurre después causa mortinatos y labor prematura. La infección en mujeres también puede provocar falla renal, disfunción hepática, coagulación intravascular diseminada y podría provocar la muerte (Entrican *et al.*, 2001, Longbottom y Coulter, 2003, Pospischil *et al.*, 2002).

2.2.4 Ciclo de vida

Los miembros de la familia Chlamydiaceae son bacterias intracelulares obligadas, que se replican dentro de vacuolas en el citoplasma de células eucariotas (formando inclusiones intracitoplasmáticas) **(Figura 1)**, como son células epiteliales de mucosas conjuntival, genital y de tracto intestinal y en células del sistema retículo endotelial (Smith y Sherman, 2009, Stephens, 1999).

La bacteria es considerada Gram negativa pero estudios bioquímicos demuestran que la pared celular carece de peptidoglicano. Tiene una membrana externa trilaminar la cual consiste de proteínas y lipopolisacáridos. Las proteínas le confieren especificidad y pueden actuar como adhesinas y los lipopolisacáridos los

cuales tienen propiedades endotóxicas son específicos de la familia Chlamydiaceae. El tamaño del genoma es el más pequeños entre los procariontes (Qin *et al.*, 2014b).

Esta familia adquirió un ciclo de desarrollo bifásico único, caracterizado por dos estructuras morfológicas distintas, el cuerpo elemental (CE) y el cuerpo reticular (CR), también se pueden encontrar formas intermedias (Gyles *et al.*, 2008, Longbottom y Coulter, 2003).

El cuerpo elemental es la forma infectiva de la bacteria y está adaptado para sobrevivir fuera de la célula, tiene un diámetro de 200 – 300 nm. El cuerpo reticular es la forma multiplicativa y se va a encontrar en las inclusiones intracitoplasmáticas, tiene un diámetro que va de los 500 a 1000 nm y va ser la de mayor presencia durante todo el desarrollo (Gyles *et al.*, 2008, Longbottom y Coulter, 2003).

El ciclo de desarrollo consta de 5 fases:

1) Unión y penetración del CE a una célula huésped susceptible: La penetración a la célula eucariota ocurre por endocitosis mediada por receptores. El CE entra en endosomas (inclusión intracitoplasmática) y es ahí mismo donde permanece durante el ciclo completo. 2) Conversión del CE en CR: Después de un proceso de reorganización estructural que dura algunas horas dentro de la inclusión intracitoplasmática se da la conversión del CE en CR. Durante este proceso evita ser destruida por parte de la célula. 3) Crecimiento y replicación de CR: El CR se multiplica mediante una fisión binaria, esto lo realiza utilizando los componentes celulares. A medida que los cuerpos reticulares se van multiplicando la inclusión intracitoplasmática rápidamente se llena y aumenta su tamaño. 4) Reorganización del CR a CE: Después de 24 a 48 horas (dependiendo de cada especie) el CR se transforma de nuevo en el infeccioso y metabólicamente inactivo CE. 5) Liberación de CE de la célula huésped: La célula se lisa liberando la nueva progenie de CE, las cuales van a infectar células susceptibles vecinas. También se liberan CR y cuerpos intermedios (Gyles *et al.*, 2008, Longbottom y Coulter, 2003, Qin *et al.*, 2014b) **(Figura 2)**.

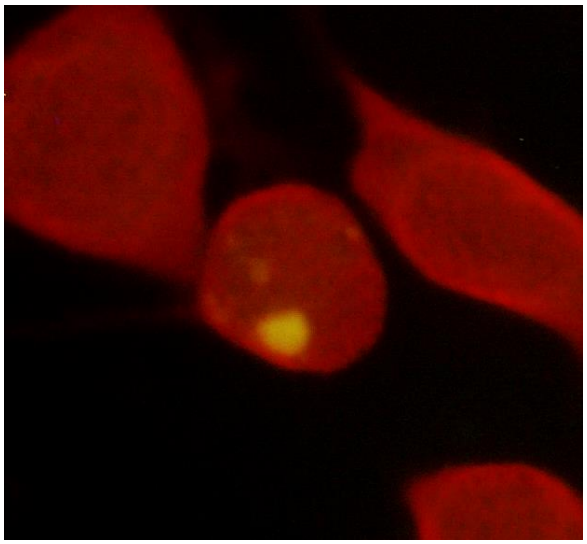

Figura 1. Inclusión intracitoplasmática causada por *Chlamydophila abortus* en célula de fibroblasto de ratón L929.

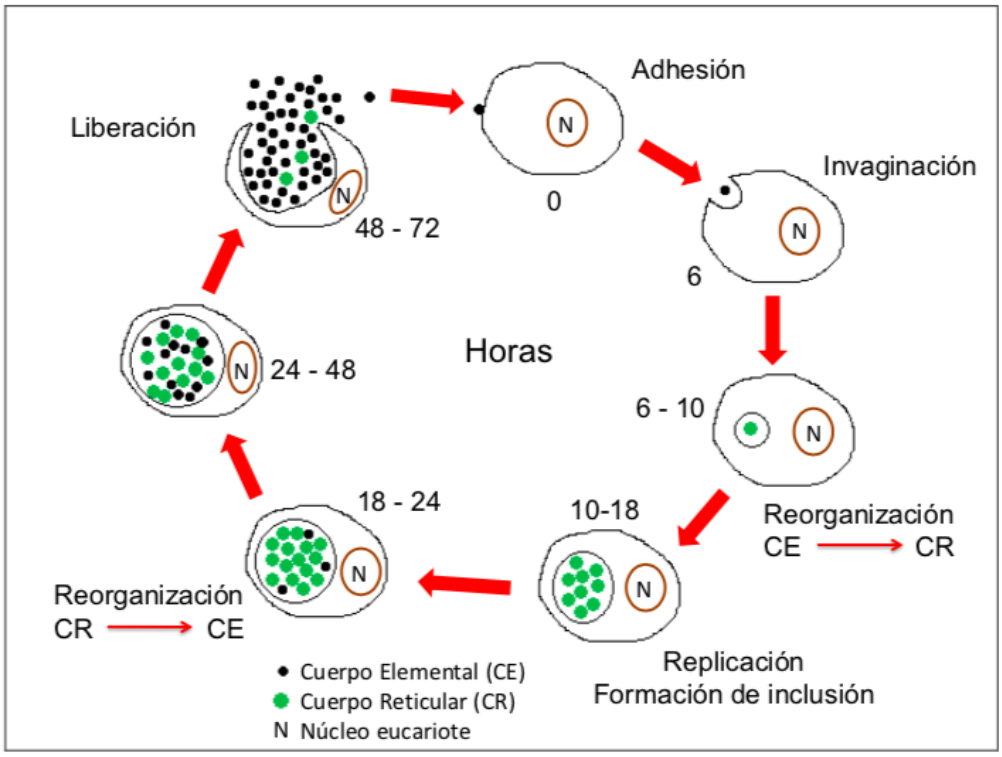

Figura 2. Ciclo de desarrollo de *Chlamydophila abortus*

2.2.5 Diagnóstico

Para diagnosticar el aborto enzoótico de los pequeños rumiantes hay esencialmente dos propuestas, la primera involucra la detección directa del agente en tejidos o muestras de exudado, mientras que la segunda es la determinación indirecta que tiene como objetivo conocer si hay presencia de anticuerpos anti-clamidiales en suero (Sachse *et al.*, 2009).

Un diagnóstico temprano y preciso de la causa del aborto es de importancia crítica para adoptar medidas de control adecuadas para limitar o prevenir la diseminación de la infección (Longbottom y Coulter, 2003).

La presencia de abortos dos a tres semanas antes del parto esperado, junto con membranas placentarias inflamadas y necróticas puede ayudar a realizar un diagnóstico presuntivo de la enfermedad, tomando en cuenta también la historia clínica del rebaño (Longbottom y Coulter, 2003). Sin embargo un diagnóstico preciso requiere confirmación a través de pruebas diagnósticas de laboratorio, debido a que otros microorganismos también pueden ser causantes de aborto en caprinos como *Brucella melitensis*, *Listeria monocytogenes*, *Leptospira interrogans*, *Coxiella burnetii*, *Campylobacter fetus* ssp *fetus* y *Toxoplasma gondii*, estas últimos tres provocando además lesiones en las membranas placentarias (Matthews, 1999, Sachse *et al.*, 2009, Smith y Sherman, 2009).

Chlamydophila abortus puede ser aislado de muestras de tejidos infectados como cotiledones, membranas intercotiledonarias, pulmón e hígado fetal, así como de exudado vaginal y heces (Sachse *et al.*, 2009). Las muestras son enviadas al laboratorio de diagnóstico en un medio de sucrosa- fosfato-glutamina SPG, suplementado con suero fetal bovino al 10% y antibióticos como estreptomicina y gentamicina, pero no penicilina. Este es un medio de transporte especial para la familia Chlamydiaceae (Spencer y Johnson, 1983).

Al ser una bacteria intracelular obligada, *C. abortus* requiere ser aislada y propagada en embrión de pollo o en cultivo celular. Por lo que el aislamiento es

considerado la prueba de oro y el método más sensible para el diagnóstico de la infección clamidial (Organización Mundial de la Salud, 2002, Sachse *et al.*, 2009).

Chlamydophila abortus puede ser aislada en una variedad de líneas celulares, pero McCoy, HeLa, L929 y células de riñón de hámster neonato (BHK) son las más comúnmente utilizadas. La bacteria se puede detectar después del cultivo celular por la prueba de anticuerpo fluorescente (Longbottom y Coulter, 2003).

La bacteria también puede ser detectada en órganos y exudados por medio de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), con la ventaja de proporcionar una detección rápida y específica en muestras biológicas sin recurrir al cultivo celular. La mayoría de los PCR convencionales está enfocado al operón ribosomal RNA o al gen *omp*A. Pero se debe tener en cuenta la posibilidad de la presencia de inhibidores en las muestras, lo que podría causar resultados falsos negativos (Organización Mundial de la Salud, 2002, Sachse *et al.*, 2009).

Después del aborto, los títulos de anticuerpos maternos contra *Chlamydophila abortus* aumentan, esto puede ser medido por la técnica de Fijación del Complemento (FC). Pero la reacción de antigenicidad cruzada entre *C. abortus* y *C. pecorum*, así como de otras bacterias Gram negativas pueden complicar la interpretación de resultados (Organización Mundial de la Salud, 2002, Sachse *et al.*, 2009).

Existen pruebas serológicas más sensibles y específicas como el Ensayo Inmunoabsorbente de Unión de Enzimas (ELISA) basados en anticuerpos monoclonales específicos de *C. abortus* que reconoces regiones especificas de la proteína mayor de la membrana externa (MOMP) y fragmentos de proteína recombinante de la familia POMP (Proteína polimórfica de membrana externa) (Longbottom y Coulter, 2003).

CAPÍTULO 2. PREVALENCIA GLOBAL, REGIONAL Y NACIONAL DE CLAMIDIOSIS EN PEQUEÑOS RUMIANTES: REVISIÓN SISTEMÁTICA Y META-ANÁLISIS

3.1 INTRODUCCIÓN

Chlamydia abortus es una bacteria intracelular obligada causante de aborto enzoótico de los pequeños rumiantes (World Organization for Animal Health, 2018). La clamidiosis es un problema de salud animal que afecta a hembras de ovinos, caprinos y bovinos de todo el mundo causándoles aborto en el ultimo tercio de gestación (Longbottom y Coulter, 2003), lo que genera en consecuencia pérdidas económicas significativas debido a la pérdida de las crías y la producción de leche. Además, también se ha encontrado que los machos de estas especies son portadores de la bacteria y que tiene capacidad de infectar a las hembras sanas por vía venérea (Kauffold *et al.*, 2007).

En el caso de los pequeños rumiantes, en los rebaños donde no se ha presentado la enfermedad, la tasa de abortos en el primer año posterior a la introducción de animales infectados suele ser baja (Rodolakis *et al.*, 1998). Sin embargo, en los siguientes 2-3 años la tasa de abortos se puede incrementar entre 30 y 90%, con lo cual disminuye de forma significativa la producción de leche (Rodolakis y Yousef Mohamad, 2010). Después, la enfermedad provoca una incidencia anual de aborto de entre 5 y 10%, la cual se puede repetir durante 2-3 años hasta que ocurre de nuevo una epidemia, siendo afectadas principalmente las hembras primíparas (Rodolakis, 2001).

Además del problema de salud animal, existe un potencial zoonótico hacia las personas expuestas a actividades ganaderas, particularmente durante la época de partos/abortos debido a que se incrementa el contacto con las descargas bacterianas que se encuentran en los tejidos placentarios y secreciones vaginales de las hembras infectadas. En los humanos, C. abortus pude causar conjuntivitis y neumonía (Rodolakis y Yousef Mohamad, 2010). Además de que en las embarazadas, la clamidiosis puede ocasionar complicaciones como cuadros

febriles y abortos (Pospischil *et al.*, 2002).

A nivel mundial, la clamidiosis genera un importante impacto económico en la producción de pequeños rumiantes, por lo cual el control y erradicación de la bacteria es un tema relevante. En ganado bovino, se ha estimado que las pérdidas económicas ocasionadas por un aborto van de 500-1000 dólares en Estados Unidos y Reino Unido (Hovingh, 2009). Adicionalmente, se ha estimado en algunas regiones de Europa que las pérdidas económicas ocasionadas por el aborto enzoótico de los pequeños rumiantes alcanzan los 20 millones de libras al año (Longbottom, 2004). Es por ello necesario estimar la prevalencia de la enfermedad y examinar su distribución en las diferentes naciones a nivel global, para de esta forma hacer recomendaciones enfocadas al control de la enfermedad en las regiones donde la infección es más prevalente. En la presente investigación se realizó una revisión sistemática y meta-análisis para responder ¿Cuál es la prevalencia global, regional y nacional de clamidiosis en pequeños rumiantes? Para lo cual se incluyeron estudios primarios de diseño transversal, estudios de caso o retrospectivos realizados en ovinos y caprinos en los cuales se detectó la presencia de *C. abortus* mediante alguna técnica diagnóstica. Los resultados obtenidos del estudio nos permitirán resumir la evidencia científica publicada hasta la fecha para ofrecer un panorama global sobre la magnitud de la infección ocasionada por *C. abortus* en los hatos de pequeños rumiantes de las diferentes regiones del mundo.

3.2 METODOLOGÍA

3.2.1 Protocolo y preguntas del estudio

Para este estudio se desarrolló un protocolo *a priori* de acuerdo con la guía PRISMA-P (Preferred Reporting Items for Systematic reviews and Meta-analysis Protocol) publicada por Moher *et al.* (2015) el cual se encuentra disponible previa solicitud al autor de correspondencia. Adicionalmente, el estudio se elaboró siguiendo la guía Cochrane (Higgins *et al.*, 2019) para revisiones sistemáticas y meta-análisis y se reportó de acuerdo con la declaración PRISMA (Liberati *et al.*, 2009). En la presente investigación se realizó un meta-análisis para responder:

¿Cuál es la prevalencia de clamidiosis en ovinos y caprinos a nivel global y nacional?

3.2.2 Criterios de elegibilidad

Para nuestro meta-análisis se utilizó una modificación de la aproximación PICOS (Population, Intervention, Comparator, Outcome y Study, por sus siglas en Inglés) incluida en la declaración PRISMA (Liberati *et al.*, 2009). En nuestro meta-análisis se consideró: población, factor de estudio, variable de respuesta y tipo de estudio, para lo cual la población incluida en los estudios se definió como ganado ovino o caprino sin distinción de sexo, etapa fisiológia o función zooténica. El factor de estudio fue la presencia de *C. abortus*, para lo cual se definió como caso a toda muestra proveniente de un individuo/tejido/rebaño que resultó positivo a *C. abortus* de acuerdo con el resultado de alguna técnica diagnóstica (molecular, serológica, bacterológica o inmunológica) realizada sobre cualquier tipo de muestra ya sea de fluidos corporales o tejido. En las investigaciones incluidas se consideró como variable de respuesta la prevalencia de clamidiosis (porcentaje de positivos/total evaluado) tanto a nivel individual como a nivel de rebaño, sin hacer una distinción entre ambos debido a que la mayoría de estudios (>90%) reportó prevalencias a nivel individual. De acuerdo con el tipo de estudio, únicamente se incluyeron estudios primarios en inglés, español o portugués publicados como textos completos revisados por pares con diseño de tipo transversal, cohortes, estudios de caso o estudios retrospectivos. No se consideraron restricciones temporales o regionales. En el presente estudio no se incluyó literatura gris (estudios no publicados) para asegurar un nivel de metodología homogéneo y comparable entre los estudios seleccionados (Van Driel *et al.*, 2009).

3.2.3 Fuentes de Información y estrategias de búsqueda

Dos revisores realizaron las búsquedas de forma independente entre el 24 de febrero y el 2 de marzo de 2020 en PubMed, Scopus, Science Direct, Biblioteca Virtual en Salud (BVS), CAB Abstracts y Web of Science. Adicionalmente, se realizó una última actualización de las búsquedas el 20 de octubre de 2020 para encontrar

estudios adicionales. No se contactó a los autores de los estudios para identificar estudios adicionales, así como tampoco se realizaron búsquedas cruzadas o de otras fuentes fuera de las bases electrónicas. Los términos de búsqueda fueron definidos de acuerdo con la población de caprinos (goat OR caprine) u ovinos (ovine OR sheep OR ewe), el factor de estudio (chlamydia abortus OR chlamydophila abortus OR clamidial OR clamidiosis) y la variable de respuesta (prevalence OR epidemiology OR incidence O surveillance OR frequency). En cada base se utilizaron los filtros metodológicos disponibles para refinar el proceso de búsqueda y se utilizaron operadores boleanos (AND, OR) para los comandos de búsqueda. En todos los casos, las búsquedas se realizaron en título y abstract y se definieron de la siguiente manera: (factor de estudio) AND (población) AND (variable de respuesta). Por ejemplo, para buscar estudios sobre ovinos se utilize el siguiente comando en ScienceDirect: (chlamydia abortus OR clamidial OR clamidiosis) AND (sheep OR ovine) AND (prevalence OR epidemiology OR incidence), mientras que en CAB Abstracts, el comando correspondió a: title:(chlamydia abortus OR chlamydophila abortus) AND title:(ewe OR sheep OR ovine) AND title:(prevalence OR epidemiology OR incidence OR surveillance OR frequency)) y en Scopus el commando incluyó: TITLE-ABS-KEY ((chlamydia OR Chlamydophila OR abortus) AND (ewe OR ovine OR sheep) AND (prevalence OR epidemiology OR incidence OR frequency))

3.2.4 Proceso de selección de estudios

Una vez completadas las búsquedas, un revisor reunió los registros de cada base electrónica para posteriormente generar una biblioteca en EndNote X9 (Thomson Reuters, USA). Posteriormente, el mismo revisor eliminó los duplicados de forma automática y manual previo al cribado de los estudios basándose primero en los títulos y después en los resúmenes. Los registros seleccionados fueron recuperados en texto completo previo a la etapa de elegibilidad, durante la cual dos revisores independientes usaron un cuestionario basado en los criterios de elegibilidad para la selección final de los estudios. Para probar el cuestionario se realizó un pilotaje del 10% de los estudios seleccionados de forma aleatoria para

posteriormente aplicar el cuestionario en el total de registros seleccionados. Previo a la correción de discrepancias entre los revisores, se encontró un nivel de acuerdo moderado entre los revisores que seleccionaron los estudios (Kappa = 0.686, T = 9.501; $p < 0.000$). En los casos donde se presentaron diferencias al momento de seleccionar los artículos, intervino un tercer revisor para llegar a un consenso.

3.2.5 Proceso de colección de información y datos extraídos

Un solo revisor extrajo los datos de las publicaciones seleccionadas, utilizando un formato predefinido a partir de los criterios de elegibilidad, el cual fue probado mediante un pilotaje que incluyó una selección aleatoria del 10% de los estudios de la base de datos. Entre los principales datos extraídos se incluyeron las características del estudio (autor y año de publicación), el país y región geográfica donde se realizó el estudio, las características de la población evaluada (raza, edad, función zootécnica), el diseño del estudio, el tipo de muestra evaluada, la técnica de diagnóstico y la prevalencia (porcentaje de muestras positivas a *C. abortus* divididas entre el número total de muestras incluidas en el estudio). Cabe señalar que algunas publicaciones incluyeron resultados de ambas especies y reportaron la prevalencia de clamidiosis a nivel individual y de rebaño. En dichos casos, se extrajó la información de cada especie y para el nivel de muestreo individual debido a que produce menor error de estimación, por lo cual algunas publicaciones incluyeron resultados de dos estudios independientes (uno para cada especie). En los casos en donde existió información incompleta, no se contactó a los autores para obtenerla o confirmarla.

3.2.6 Evaluación de riesgo de sesgo

Para evaluar el riesgo de sesgo de los estudios individuales se adaptó la metodología propuesta por Higgins *et al.* (2019). En cada estudio se determinó si se presentaba o no (Si o No) riesgo de sesgo en los siguientes campos: 1) confirmación de muestras positivas a *C. abortus* mediante 2 o más técnicas diagnósticas, 2) se incluyó una definición completa de la población estudiada, de forma que permita extrapolar los resultados del estudio hacia una población de

características similares, 3) presentación de datos completos y claros del número de muestras positivas y el número total evaluado. Los resultados se presentan en porcentaje para los siguientes resultados: SI, cumple el criterio definido y se considera libre de sesgo; NO, no cumple el criterio y se presenta riesgo de sesgo en el campo evaluado; NA, no aplica el criterio y no se puede evaluar el riesgo de sesgo.

3.2.7 Resumen de evidencia y análisis estadístico de datos

En nuestro estudio, se utilizó como medida de resumen principal a la proporción (número de positivos divididos por el número total evaluado). Por lo tanto, la prevalencia de clamidiosis en cada población de pequeños rumiantes se resumió mediante un meta-análisis de proporciones sin distinguir los resultados de acuerdo con el nivel de muestreo (individual o rebaño) o las características de la población (sexo, edad, raza, función) debido a que no se reportaron de forma consistente entre los estudios. Mediante el meta-análisis de proporciones se obtuvo una estimación conjunta de los estudios individuales usando la transformación doble arcoseno de Freeman-Tukey (Barendregt *et al.*, 2013) con intervalo de confianza exactos del 95% (Nyaga *et al.*, 2014). Se definió a *priori* un modelo de efectos aleatorios (D-L) (Nikolakopoulou *et al.*, 2014) debido a la posible heterogeneidad de los estudios (Borenstein *et al.*, 2007). Se utilizó meta-análisis por subgrupos para agregar las estimaciones primero a nivel regional de acuerdo con las siete regiones definidas por la Organización Mundial de la Salud (World Health Organization, 2003) y después a nivel nacional. Tal como se describió en estudios previos (Diaz *et al.*, 2019, Romo-Barron *et al.*, 2019), para evaluar la heterogeneidad significativa entre estudios se utilizó el estadístico Q de Cochran, mientras que se utilizó al estadístico I^2 para determinar la proporción de variación en las estimaciones de los efectos que se debe a la heterogeneidad en los efectos verdaderos más que al error de muestro (Borenstein *et al.*, 2017). Finalmente, de acuerdo con Hunter *et al.* (2014), no se evaluó el riesgo de publicación mediante la construcción de gráficas de embudo o con la prueba de Egger debido a que se considera un método no recomendado para

estudios de proporciones, en los cuales no se espera que ocurra sesgo de publicación.

Los análisis y forest plots se realizaron en Stata 12 (StataCorp, TX, USA) y las gráficas se construyeron en Prism 9 (GraphPad, Inc. CA, USA). En todos los casos se consideró un valor de $p < 0.05$ como significativo.

3.3 RESULTADOS

3.3.1 Selección de estudios

Mediante la búsqueda en bases electrónicas se encontraron 5,058 registros, de los cuales BVS aportó 73.9%, seguida de Scopus y PubMed (10.2% y 9.3%, respectivamente). En total, se eliminaron 2,009 duplicados y se evaluaron 3,049 registros durante el proceso de cribado. Después de aplicar los criterios de inclusión al título y resumen, se eligieron 224 publicaciones que al parecer cumplieron con las características definidas para ser incluidos; por lo cual se recuperaron en texto completo, aunque solo se lograron recuperar 183/224 estudios seleccionados. Después de aplicar el formato de elegibilidad a los 183 textos completos, se excluyeron 104 publicaciones que no cumplieron los criterios de inclusión por las siguientes razones: 67.3% no incluyeron la población definida, 25.0% no correspondieron al tipo de estudio definido y 7.7% no presentaron prevalencia de *C. abortus*. En total, se eligieron 79 publicaciones que reportaron la prevalencia de clamidiosis en pequeños rumiantes (**Figura 1**).

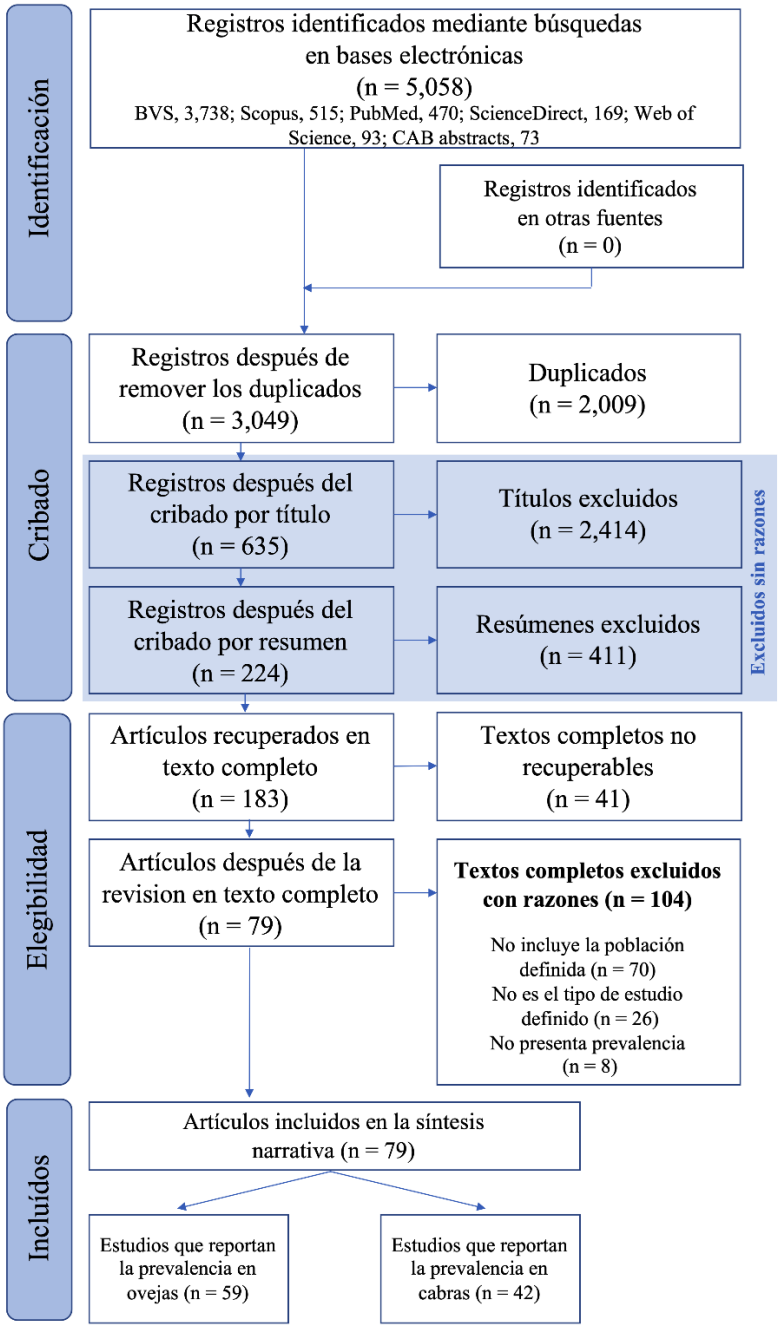

Figura 1. Diagrama de flujo PRISMA del proceso de identificación, selección y elegibilidad de los estudios incluidos en el meta-análisis. Algunas publicaciones incluyeron estudios independientes en ovinos y caprinos, por lo tanto la suma total de estudios en ambas especies es mayor a la de los artículos incluidos en la síntesis narrativa.

3.3.2 Características generales de los estudios

Las 79 publicaciones que se incluyeron en el meta-análisis se realizaron en 34 diferentes países, entre los cuales seis naciones que incluyeron a Italia y México (6 estudios cada uno), Brasil e Irán (5 estudios cada uno) y España y Estados Unidos (4 estudios cada uno) aportaron 37.9% de las publicaciones (**Figura 2A**). Se presentó una distribución global de la investigación en clamidiosis en pequeños rumiantes debido a que las publicaciones se localizaron en los cinco continentes, principalmente en Europa, América y Asia (30, 19 y 16 publicaciones, respectivamente; **Figura 2B**). De acuerdo con la fecha de publicación, la mitad de las 79 investigaciones se publicaron a partir de 2012, lo cual es un indicativo de la relevancia que ha adquirido el tema de la clamidiosis en años recientes (**Figura 2C**).

Con respecto al diseño del estudio, la mayoría de las publicaciones fueron estudios epidemiológicos de corte transversal (76/79), los tres estudios restantes tuvieron un diseño de cohortes. El idioma inglés predominó entre los estudios (76/79), mientras que solamente dos estudios se publicaron en español y otro más en portugués. Finalmente, 37 estudios evaluaron la presencia de *C. abortus* en ovinos (Astorga *et al.*, 2014, Bagdonas *et al.*, 2007, Barkallah *et al.*, 2018a, Borel *et al.*, 2004, Chisu *et al.*, 2013, Diaz *et al.*, 2014, Gerber *et al.*, 2007, Giangaspero *et al.*, 2013, Graham *et al.*, 2016, Griffiths *et al.*, 1996, Güler *et al.*, 2006, Hedstrom *et al.*, 1989, Hireche *et al.*, 2016, Hireche *et al.*, 2014, Hosein *et al.*, 2019, Huang *et al.*, 2013, Jelocnik *et al.*, 2019a, Kennedy *et al.*, 2001, Kirkbride, 1993, Krkalic *et al.*, 2016, Lenzko *et al.*, 2011, Loureiro *et al.*, 2017, Mainar-Jaime *et al.*, 1998, Marsilio *et al.*, 2005, McCauley *et al.*, 2010, Michalopoulou *et al.*, 2007, Miller *et al.*, 1990, Palomares *et al.*, 2020, Pinheiro Junior *et al.*, 2010, Qin *et al.*, 2014a, Rossi *et al.*, 2012, Runge *et al.*, 2011, Spilovska *et al.*, 2009, Szeredi y Bacsadi, 2002, Thiele *et al.*, 1992, Tomlinson *et al.*, 2000, Villagra-Blanco *et al.*, 2015b).

Otros 20 estudios incluyeron caprinos (Araujo *et al.*, 2018, Beena *et al.*, 2017, Bhandi *et al.*, 2019, Borde *et al.*, 2006, Borujeni *et al.*, 2019, Brown *et al.*, 1989, Campos-Hernandez *et al.*, 2014, Castro-Flores *et al.*, 2020, Di Blasio *et al.*, 2019, Diaz *et al.*, 2015, Escalante-Ochoa *et al.*, 1997a, Hu *et al.*, 2018a, Liao *et al.*, 1997,

Masala *et al.*, 2007, Moeller, 2001, Samkange *et al.*, 2010, Santos *et al.*, 2012, Sharma *et al.*, 2003, Tejedor-Junco *et al.*, 2018, Wang *et al.*, 2001)

Veintidos estudios más examinaron de forma independiente la presencia de la bacteria en ambos tipos de pequeños rumiantes (Ababneh *et al.*, 2014, Apel *et al.*, 1989, Benkirane *et al.*, 2015, Chahota *et al.*, 2015, Esmaeili *et al.*, 2015b, Esmaeili *et al.*, 2017, Greco *et al.*, 2005, Gupta *et al.*, 2015, Hailat *et al.*, 2018, Hazlett *et al.*, 2013, Heidari *et al.*, 2018, Jelocnik *et al.*, 2019b, Masala *et al.*, 2005, Rekiki *et al.*, 2006, Rekiki *et al.*, 2002, Rubio-Navarrete *et al.*, 2017, Spicic *et al.*, 2015a, Spicic *et al.*, 2019, Szeredi *et al.*, 2006, Tavares *et al.*, 2011, Teankum *et al.*, 2007, Yin *et al.*, 2014) (**Figura 2D**).

3.3.1 Evaluación de riesgo de sesgo

Los resultados de la evaluación de riesgo de sesgo indicaron que 29.7% de los estudios utilizaron dos o más pruebas diagnósticas para confirmar la positividad a *C. abortus* en las muestras evaluadas, por lo cual se calificaron como libres de riesgo de sesgo. En contraste, 70.3% de los estudios únicamente incluyó una técnica para detectar la presencia de la bacteria patógena y por lo tanto se calificaron con riesgo de sesgo en dicho campo. Con respecto a la adecuada definición de la población evaluada en los estudios, se encontró que 14.9% de los mismos reportaron detalles suficientes sobre la población y recibieron una evaluación como libres de riesgo de sesgo, mientras que el 85.1% de los estudios restantes no incluyó información detallada sobre la población que evaluaron y por lo tanto presentaron riesgo de sesgo. Finalmente, 92.0% de los estudios reportaron de forma clara y completa los resultados de la investigación y se evaluaron como libres de riesgo de sesgo.

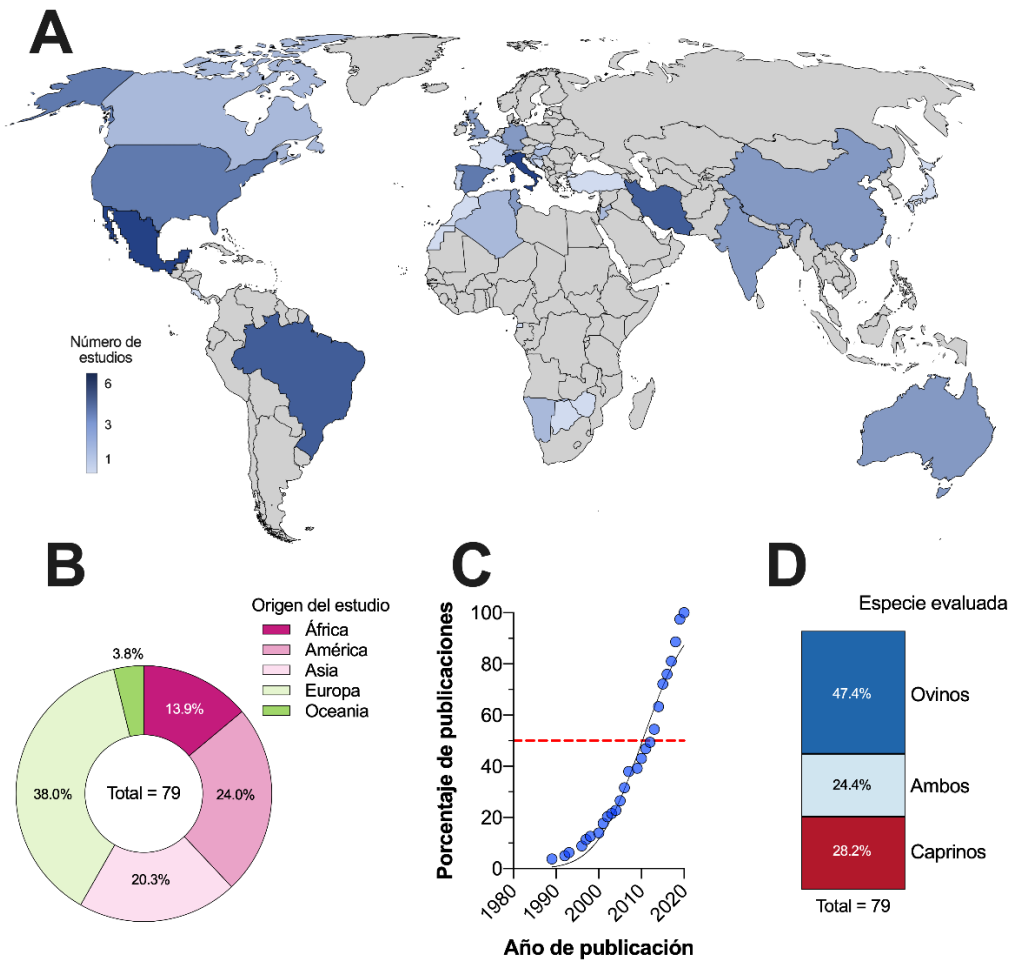

Figura 2. A) Distribución geográfica del número de estudios a nivel nacional, B) Porcentaje de estudios por continente, C) Distribución acumulada de los estudios de 1980-2020 y D) Porcentaje de estudios de acuerdo con la especie evaluada.

3.3.2 Características individuales de los estudios que evaluaron ovinos

Un total de 59 estudios reportaron la prevalencia de clamidiosis en ovinos. La mayoría de los estudios no presentaron información específica con respecto a las características de la población que analizaron: 9/59 estudios presentaron la raza evaluada, 8/59 estudios reportaron un rango de edad de los ovinos analizados, 20/59 estudios reportaron el sexo de los animales (16 utilizaron hembras, 1 machos y 3 animales de ambos sexos). De acuerdo con la información clínica de los ovinos

incluidos en las publicaciones, 25/59 estudios reportaron historial de abortos o fallas reproductivas, 30/59 estudios no reportaron información, mientras que un estudio evalúo la presencia de *C. abortus* en animales clínicamente sanos y tres estudios más incluyeron ovinos con problemas de conjuntivitis y padecimientos de los ojos. Adicionalmente, 26/59 estudios analizaron la presencia de *Chlamydia* únicamente en muestras de sangre, 10/59 estudios incluyeron muestras de sangre y algún otro tejido, 3/59 estudios evaluaron muestras provenientes de los ojos de los ovinos y 20/59 estudios analizaron muestras de origen reproductivo, incluyendo fetos, placentas, semen, vagina y útero.

De acuerdo con el tipo de diagnóstico para detectar al patógeno en las muestras evaluadas, 11/59 estudios utilizaron cultivo o inmunofluorescencia, 8/59 estudios utilizaron inmunohistoquímica en tejidos o células, 14/59 estudios emplearon fijación del complemento, 26/59 estudios utilizaron ELISA y 23/59 estudios confirmaron la presencia de *Chlamydia* mediante PCR. Por último, entre los 59 estudios que evaluaron la presencia de la bacteria en ovinos, 44 estudios detectaron *C. abortus*, 8 estudios detectaron *C. psittaci* y los 7 estudios restantes evaluaron la presencia de *Chlamydia* spp.

3.3.3 Prevalencia de C. abortus en ovinos a nivel global, regional y nacional

Los 59 estudios que evaluaron ovinos incluyeron un total de 28,212 muestras, de las cuales 3,705 resultaron positivas a *C. abortus*. A nivel global, los resultados del meta-análisis revelaron una estimación conjunta de 21.4% de clamidiosis (IC al 95%: 17.8 – 25.3) con la presencia de heterogeneidad significativa entre los estudios (X^2 = 4259.9, g.l. = 58; $p < 0.000$) y la existencia de una proporción significativa de variación atribuible a la heterogeneidad (I^2 = 98.6%, $p < 0.000$; **Figura 3**).

De acuerdo con el resumen que se presenta en el **Cuadro 1**, a nivel regional los estudios realizados en África Subsahariana (24.6%, IC al 95%: 22.7 – 26.5), Medio Oriente y África del Norte (24.4%, IC al 95%: 15.3 – 34.7) y Europa y Asia Central (23.9%, IC al 95%: 17.3 – 31.2) presentaron los valores más altos de prevalencia entre las siete regiones definidas por la OMS. En contraste, *C. abortus*

resultó menos prevalente en los estudios provenientes de las regiones de Asia del Sur y Asia del Este y Pacífico, en las cuales las estimaciones se ubicaron en 10.8% y 11.2%, respectivamente. A diferencia de los estudios realizados en Latinoamérica y el Caribe y Asia del Sur que aportaron la menor cantidad de muestras totales (2.4% y 3.3%, respectivamente), los estudios de la región de Europa y Asia Central contribuyeron con la mayoría de las muestras evaluadas de ovinos (66.1%).

Adicionalmente, la prevalencia de clamidiosis en ovinos no solo presentó variación a nivel regional, sino que también se presentó una elevada heterogeneidad a nivel nacional. Por ejemplo, los estudios realizados en ocho países de Europa y Asia Central (Hungría, Portugal, Bosnia y Herzegovina, Alemania, España, Reino Unido, Suiza y Francia) presentaron una prevalencia de clamidisosis que varío entre 26.9% y 48.4%, los cuales se ubicaron por encima del promedio global. No obstante, dentro de la misma región la prevalencia estimada en estudios de otros seis países se ubicó por debajo de la estimación global con prevalencias entre 0.0% y 13.6%.

Los estudios provenientes de Jordania, Túnez y Marruecos localizados dentro de la región del Medio Oriente y África del Norte se ubicaron por encima del promedio global, mientras que los estudios de Argelia e Irán tuvieron una prevalencia de clamidiosis menor a la global. Los estudios realizados en países pertenecientes a las regiones de Latinoamérica y el Caribe, Asia del Este y Pacífico y Norteamérica presentaron de forma consistente estimaciones de prevalencia por debajo del promedio global. En conjunto, estos resultados demuestran que la presencia de la bacteria en los ovinos presenta variación dentro y entre regiones (**Figura 5A**).

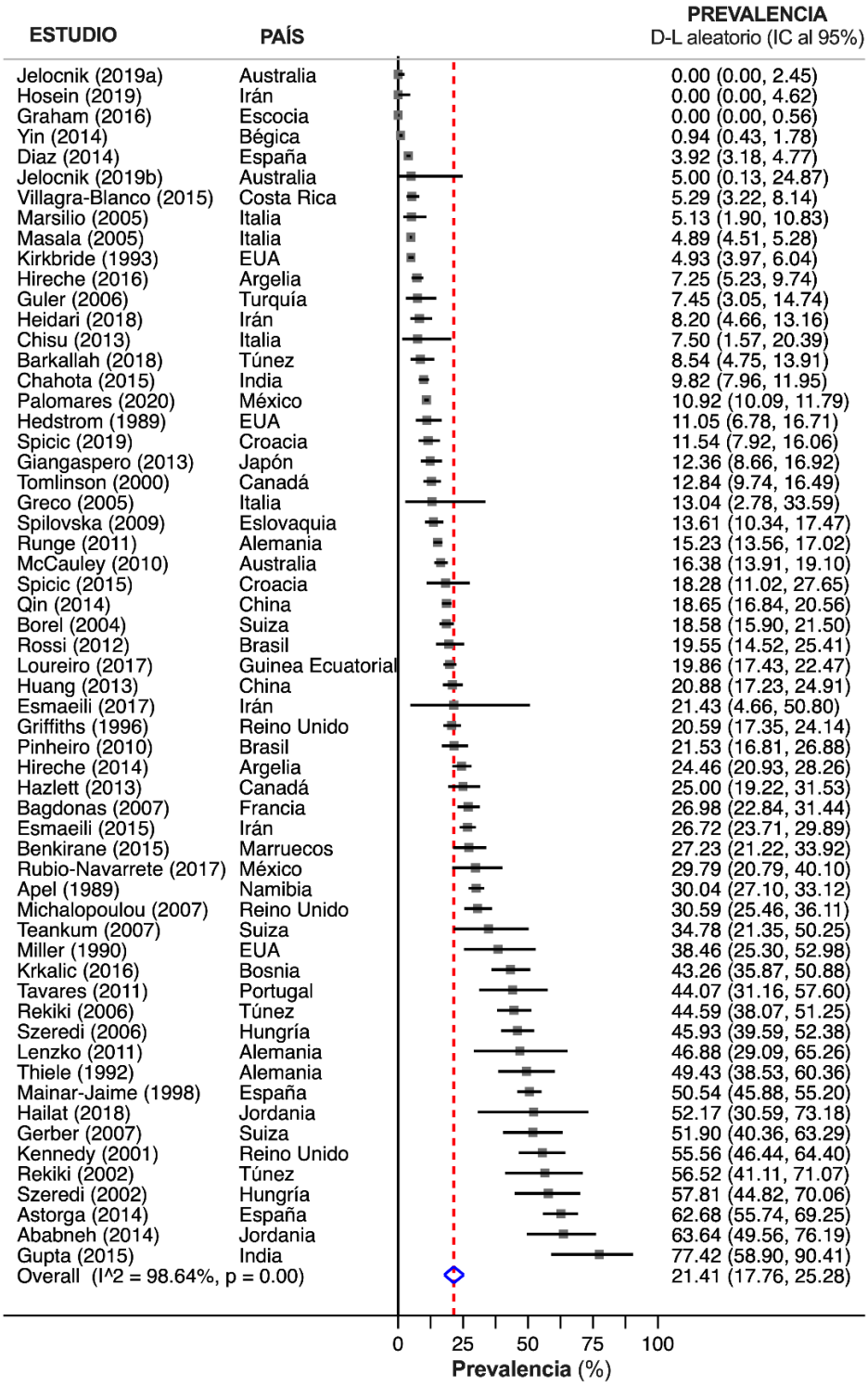

Figura 3. Forest plot del meta-análisis de la prevalencia de *C. abortus* en 59 estudios que incluyeron ovinos.

3.3.4 Características individuales de los estudios que evaluaron caprinos

Dentro de los 42 estudios que reportaron la prevalencia de *C. abortus* en caprinos, en general se presentó poca información sobre las características de la población evaluada, ya que 7/42 estudios incluyeron la raza, solo 3/42 estudios presentan la edad de los animales y 19/42 estudios reportaron el sexo de los animales (13, 1 y 5 estudios incluyeron hembras, machos o una mezcla de ambos, respectivamente). En cuatro estudios se evaluaron animales sanos, mientras que en otros 18 estudios se incluyeron hembras con historial de abortos y problemas reproductivos, además un solo estudio incluyo animales con problemas de infecciones en los ojos, mientras que los 19 estudios restantes no especifican las características clínicas de los animales evaluados.

Cuadro 1. Prevalencia de *C. abortus* en ovinos y caprinos de acuerdo con las regiones de la OMS.

Región OMS	**Ovinos**			**Caprinos**		
	Estudios	Positivos / Totales	Prevalencia (IC al 95%)	Estudios	Positivos / Totales	Prevalencia (IC al 95%)
Global	59	3,705 / 28,212	21.4 (17.8-25.3)	42	1,757 / 13,835	15.1 (11.1-19.5)
África subsahariana	2	476 / 1,924	24.6 (22.7-26.5)	4	566 / 4,623	13.1 (3.8-26.7)
Norteamérica	5	230 / 2,617	16.2 (7.6-27.2)	2	97 / 471	20.3 (16.8-24.0)
Latinoamérica y el Caribe	5	244 / 677	15.9 (9.7-23.2)	9	249 / 2,230	13.3 (5.4-23.7)
Asia del Sur	2	113 / 937	10.8 (8.8-12.9)	3	75 / 1,036	8.2 (0.0-33.4)
Asia del Este y Pacífico	6	271 / 1,717	11.2 (6.1-17.5)	4	255 / 1,585	15.3 (3.9-31.0)
Europa y Asia Central	27	1,876 / 18,663	23.9 (17.3-31.2)	11	279 / 2,588	14.9 (5.9-26.7)
Medio Oriente y África del Norte	12	495 / 1,677	24.4 (15.3-34.7)	9	236 / 1,302	23.1 (16.8-35.9)

Un total de 25 estudios evaluaron la presencia de *Chlamydia* en muestras de sangre y de algún otro tejido, mientras que otros 15 estudios incluyeron muestras de origen reproductivo (fetos, placenta, hisopados vaginales y de semen, así como úteros), solo un estudio incluyó hisopados de conjuntivales y otro estudio evalúo diferentes tipos de tejidos no reproductivos. Dentro de los 42 estudios, la principal herramienta de diagnóstico fue la técnica de ELISA debido a que 19 estudios la emplearon para identificar a la bacteria, otros nueve estudios utilizaron cultivo o inmunofluorescencia como técnica de diagnóstico, seis estudios más emplearon inmunohistoquímica en tejidos o células, mientras que ocho estudios utilizaron la fijación de complemento. Adicionalmente, en 21/42 estudios confirmaron la presencia de *Chlamydia* mediante PCR en las muestras de los caprinos. Finalmente, en 31/42 estudios se detectó *C. abortus*, siete estudios detectaron *C. psittaci* y los cuatro estudios restantes evaluaron la presencia de *Chlamydia* spp.

3.3.5 Prevalencia de C. abortus en caprinos a nivel global, regional y nacional

En total, se encontraron 1,757 muestras positivas a *C. abortus* entre las 13,835 muestras que se analizaron en 42 estudios que incluyeron caprinos. La estimación conjunta de prevalencia de clamidiosis en caprinos a nivel global fue de 15.1% (IC al 95%: 11.1 – 19.5) con evidencia de heterogeneidad sustancial entre estudios a juzgar por el valor de X^2 = 1404.4 (g.l. = 41, p < 0.000). Además de que se encontró un valor de I^2 = 97.1% (p < 0.000), el cual indica la existencia de una proporción significativa de variación atribuible a la heterogeneidad (**Figura 4**). Las estimaciones a nivel regional demostraron que los estudios prevenientes de la región del Medio Oriente y África del Norte, así como los de Norteamérica presentaron los valores más altos de prevalencia de clamidiosis en caprinos (23.1%, IC al 95%: 16.8 – 35.9 y 20.3%, IC al 95%: 16.8 – 24.0, respectivamente), mientras que en los estudios realizados en Asia del Sur la bacteria fue menos prevalente (8.2%, IC al 95%: 0.0 – 33.4). Los estudios de las otras cuatro regiones OMS presentaron valores similares a la estimación global debido a que variaron entre 13.1% y 15.3% (**Cuadro 1**).

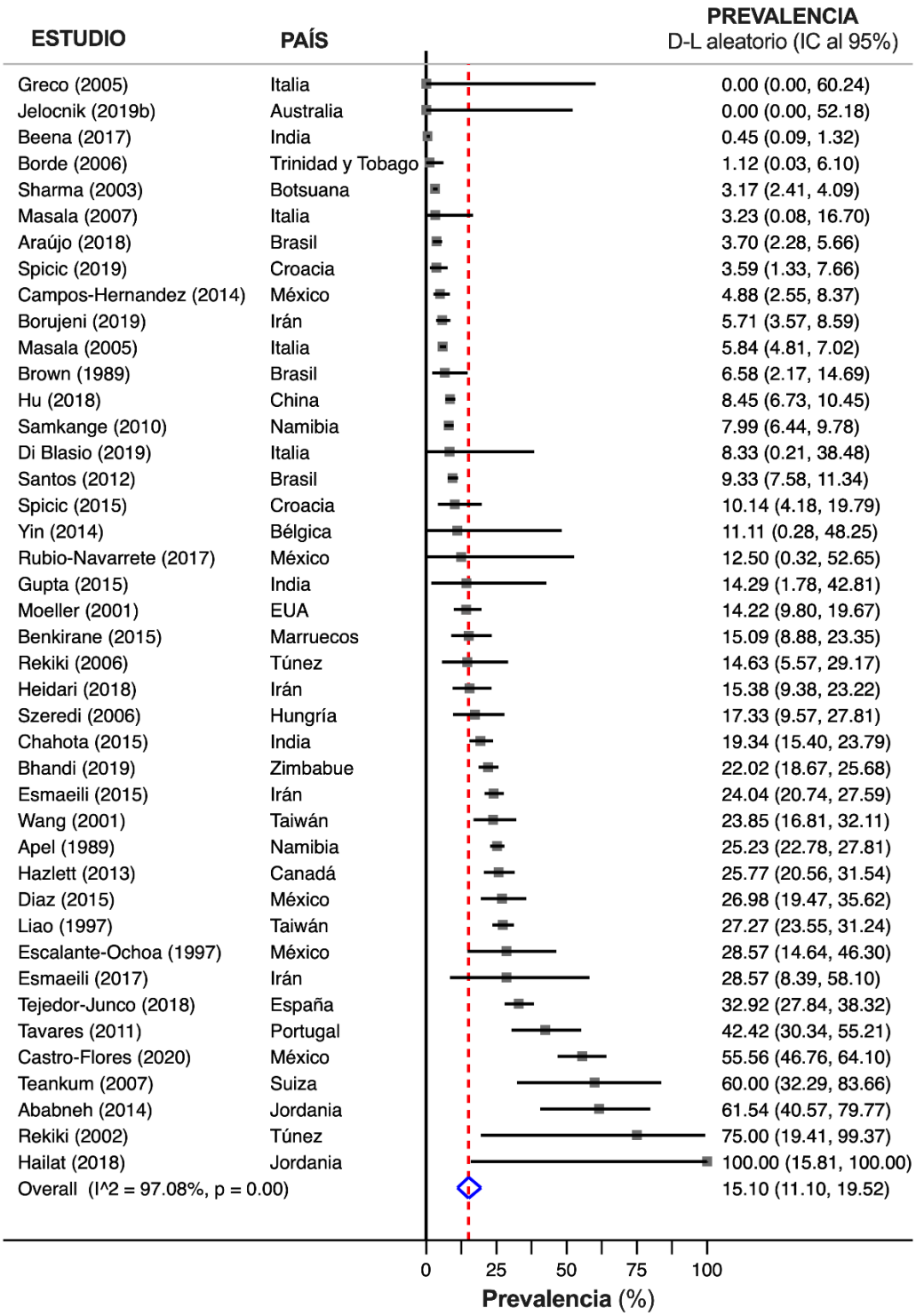

Figura 4. Forest plot del meta-análisis de la prevalencia de *C. abortus* en 42 estudios que incluyeron caprinos.

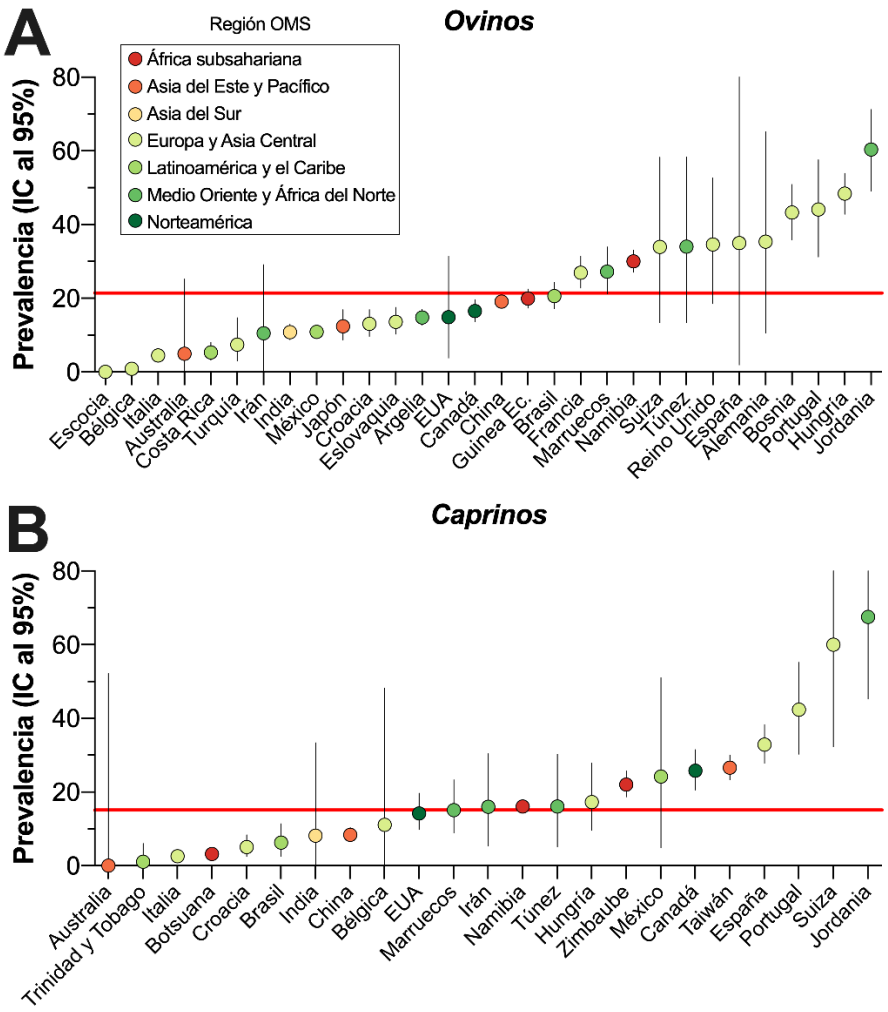

Figura 5. Prevalencia nacional de *C. abortus* en A) ovinos y B) caprinos. Se muestran las estimaciones con IC al 95%. La línea roja continua representa la estimación global por especie: ovinos, 21.4% y caprinos, 15.1%.

Como en el caso de los ovinos, las estimaciones a nivel nacional revelaron la presencia de heterogeneidad en la prevalencia de *C. abortus* en los estudios que evaluaron caprinos (**Figura 5B**). Dentro de la región del Medio Oriente y África del Norte, la clamidiosis fue más prevalente en los estudios realizados en Jordania (67.5%) con respecto a los estudios provenientes de Túnez, Irán y Marruecos, cuyas prevalencias se ubicaron entre 15.1% y 16.1%. Por su parte, los estudios procedentes de Suiza, Portugal y España que pertenecen a la región de Europa y Asia Central también se caracterizaron por una elevada prevalencia de *C. abortus*

en caprinos (rango 32.9% a 60.0%), mientras que los estudios de Italia y Croacia dentro de la misma región revelaron una baja prevalencia de la bacteria en los caprinos de ambos países (2.6% y 5.1%, respectivamente).

Los estudios correspondientes a la región Asia del Este y Pacífico resultaron contrastantes debido a que en Australia no se presentó *C. abortus*, mientras que en China la prevalencia fue inferior al promedio global y en Taiwán se presentó una estimación de 26.6% que lo ubicó por encima de la prevalencia global. Dentro de la región de Latinoamérica y el Caribe, los estudios realizados en México tuvieron una estimación de 24.2% que los posicionó por encima del promedio global, a diferencia de los estudios de Trinidad y Tobago y Brasil que presentaron valores inferiores a la estimación global (1.1% y 6.3%, respectivamente).

3.4 DISCUSIÓN

A nivel mundial, los abortos en pequeños rumiantes provocados por *C. abortus* representan un problema en los sistemas de producción pecuaria debido a las pérdidas productivas que causan. Además de los abortos, la clamidisosis ocasiona una serie de patologías con diversas implicaciones clínicas y productivas en los animales que infecta (Reinhold et al., 2011), por lo cual es considerada una amenaza para la industria ganadera. En la presente revisión sistemática y meta-análisis encontramos una prevalencia de clamidiosis de 21.4% en 59 estudios que incluyeron ovinos, la cual fue más alta al valor de 15.1% que se estimó en 42 estudios realizados en caprinos.

Adicionalmente, nuestros estudios revelaron la existencia de heterogeneidad en la prevalencia de *C. abortus* entre las regiones de la OMS, concordando así con reportes previos que demuestran variación en la prevalencia serológica de clamidiosis a nivel global (Kauffold et al., 2014). En ovinos, la clamidiosis fue más prevalente en los estudios de África Subsahariana en tanto que los estudios de Medio Oriente y África del Norte presentaron la prevalencia más alta de la infección en caprinos. Por su parte, los estudios de Asia del Sur presentaron la menor prevalencia de *C. abortus*, tanto en ovinos (10.8%) como en caprinos (8.2%).

A nivel nacional, se encontraron patrones contrastantes entre los países de algunas regiones. Tal es el caso de Jordania que pertenece a la región de Medio Oriente y África del Norte y que en ovinos y caprinos se caracterizó por la prevalencia más alta de C. abortus (60.4% y 67.55, respectivamente), en tanto que los estudios procedentes de los países vecinos como Argelia, Irán y Marruecos presentaron valores cercanos o por debajo del promedio global. De forma similar, los estudios realizados en países de la región de Asia del Este y Pacífico presentaron heterogeneidad, como por ejemplo en Australia en donde se estimaron valores de prevalencia bajos para ovinos (4.9%) y caprinos (0.0%), los cuales concuerdan parcialmente con la sugerencia de que la infección no es endémica o es relativamente baja en Oceania (Stuen y Longbottom, 2011), mientras que los otros países de la misma región que incluyeron a China, Japón o Taiwán presentaron prevalencias que fluctuaron entre 12.4% y 26.6% en ambas especies. Un caso similar se presentó en los estudios realizados en Europa y Asia Central, ya que nuestros estudios demostraron una disparidad en la prevalencia de clamidiosis entre los países de la región; en ovinos la prevalencia fluctúo de 0.0% en Escocia hasta 48.4% en Hungría, en caprinos la disparidad fue mayor debido a que la prevalencia fluctúo entre 2.6% en Italia hasta 60.06% en Suiza.

Si bien *C. abortus* es endémica en rumiantes menores de todo el mundo, también se ha documentado su presencia en bovinos y ha sido asociada con abortos (Borel et al., 2006). De hecho, los datos publicados en bovinos demuestran también la existencia de heterogeneidad y una alta prevalencia de clamidisosis, la cual oscila entre el 45% y 100% (Reinhold et al., 2011).

En los diferentes meta-análisis que realizamos se presentó evidencia de una heterogeneidad substancial entre los estudios; sin embargo, no realizamos una meta-regresión con modificadores categóricos ni análisis de sensibilidad para determinar las causas potenciales que contribuyen para explicar dicha heterogeneidad (Lean et al., 2009). Es posible que parte de la heterogeneidad que observamos se asocie con las diferencias en los sistemas de producción incluidos en los estudios, las características individuales de los animales, el tipo de manejo

productivo y reproductivo al que son sujetos los ovinos y caprinos, el diseño del estudio y el tamaño de muestra, así como las estrategias de control y prevención de la clamidiosis en cada instalación analizada. Es necesario realizar más estudios para investigar las causas específicas de tal discrepancia. Lo anterior es fundamental ya que la heterogenediad observada en la prevalencia tiene implicaciones directas sobre el diseño de estrategias encaminadas a controlar y erradicar la infección, así como en la vigilancia epidemiológica de la clamidiosis.

El rol patogénico de las especies del género *Chlamydia* y su capacidad para producir infecciones en distintas especies animales es conocido; sin embargo, la búsqueda de estos microorganismos no es realizada habitualmente (Rodolakis y Laroucau, 2015). Los ganaderos requieren diagnósticos rápidos y definitivos para que puedan planificar acciones preventivas y en muchos casos no se llega a un diagnóstico definitivo. Solamente se diagnostican el 56.5% de los abortos ovinos y solo el 22.5% en los abortos bovinos; es por ello de vital importancia la implementación de un método diagnóstico rápido y efectivo así como la correcta recolección de la información clínica que implica la cooperación tanto del ganadero como del veterinario (Wheelhouse y Dagleish, 2014).

La infección zoonótica por *C. abortus* es considerada de riesgo ocupacional (Bazala y Renda, 1992, Hinton et al., 1993, Wittenbrink, 2002). Por lo tanto, el hecho de que *C. abortus* se encuentre presente a nivel global refuerza la necesidad de extremar las condiciones de seguridad y protección de los veterinarios y del personal de campo involucrados en las actividades de parto y en la manipulación de materiales productos del aborto. Existen enfermedades zoonóticas de poca frecuencia en la población o porque se desconoce su frecuencia debido a un subdiagnóstico o falta de notificación; enfermedades como la toxoplasmosis o la clamidiasis ocupan ésta lista (Acha y Szyfres, 2003). En diversos estudios en humanos se ha detectado una prevalencia variable entre 5 y13% de anticuerpos contra *C. abortus* (Barbosa et al., 2013, Hobson y Morgan-Capner, 1988, Nagington, 1984). Además, en embarazadas la infección por *C. abortus* tiene un comportamiento muy grave por lo que se tiene que instaurar un tratamiento

específico rápidamente para evitar el aborto e incluso la muerte de la madre (Longbottom y Coulter, 2003, Rodolakis y Yousef Mohamad, 2010).

3.4.1 Limitantes del estudio

En la presente investigación detectamos las siguientes limitantes: 1) a pesar de que los estudios tuvieron una distribución global, es posible que los 35 países que se incluyeron en el meta-análisis no representen el panorama completo de la infección, 2) algunos países contribuyeron con una cantidad muy limitada de publicaciones, lo cual podría generar una sobre o subestimación de la prevalencia a nivel nacional, 3) se presentó una disparidad importante en el tamaño de muestras evaluadas entre las regiones y los países, lo cual afecta la estimación de error de la prevalencia y 4) la mayoría de los estudios no reportan las características de la población de ovinos y caprinos que evaluaron, lo cual podría limitar la extrapolación de resultados hacia otros rebaños de características similares.

3.4.2 Conclusiones

Los resultados de nuestra revisión sistemática y meta-análisis demuestran que la infección causada por *C. abortus* presenta una distribución global, además de que tiene una prevalencia más alta en ovinos que en caprinos. Adicionalmente, los resultados presentan evidencia de que en ambas especies se presenta heterogenediad en la prevalencia de clamidisosis entre regiones y dentro de las regiones a nivel nacional. Los resultados que presentamos justifican la necesidad de mantener la vigilancia epidemiológica de *C. abortus* en los países incluidos en el meta-análisis con la finaldiad de evaluar el cambio temporal de la prevalencia, al mismo tiempo que sugieren la importancia de extender el monitoreo de la clamidisosis hacia los demás países en donde se producen y consumen pequeños rumiantes, esto con la intención de evaluar la magnitud y diseminación de la infección.

CAPÍTULO 3. Prevalencia de *Chlamydia abortus* en cabras con problemas de aborto en la zona centro de Sinaloa, México

3.5 INTRODUCCIÓN

La clamidiosis es una enfermedad infecciosa que afecta a los caprinos a nivel reproductivo, es causada por la bacteria intracelular obligada *Chlamydia abortus* que presenta una distribución mundial (Cheong *et al.*, 2019); particularmente en países con producciones intensivas de pequeños rumiantes (Van den Brom *et al.*, 2012). En el ganado caprino infectado se presenta aborto durante el último tercio de la gestación (World Organization for Animal Health, 2018). En algunos casos, las cabras infectadas paren crías prematuras y débiles que generalmente mueren durante los primeros días de vida (Kuo y Stephens, 2011). La infección es transmitida por la inhalación o la ingestión de las bacterias contenidas en las descargas vaginales y placentas de cabras que abortaron o mediante agua y alimentos contaminados (Longbottom y Coulter, 2003, Papp *et al.*, 1993). Adicionalmente, la infección también se transmite a las crías que nacieron de cabras infectadas o que son alimentados por hembras que abortaron (Amin y Wilsmore, 1995). La transmisión sexual de *C. abortus* aún no está muy estudiada; sin embargo, la detección de la bacteria en hembras durante la ovulación y después del servicio de apareamiento sugieren que se favorece la transmisión venérea de la enfermedad (Livingstone *et al.*, 2009, Papp *et al.*, 1993). El alojamiento de hembras infectadas podría desencadenar en el contagio de sementales (Rodolakis y Souriau, 1986), aunque el papel del macho en la transmision sexual de la enfermedad aún no está clara.

En México, desde el 2016 se incluyó a la clamidiosis dentro del grupo 3 de las enfermedades endémicas y plagas exóticas de reporte obligatorio mensual ante las autoridades zoosanitarias (SAGARPA, 2016). De acuerdo a las autoridades de salud animal y sanidad del país, la infección causada por *C. abortus* se ubica dentro de un grupo de enfermedades de bajo riesgo desde el punto de vista epidemiológico, económico, de salud pública y de comercio (SAGARPA, 2016). No obstante, durante una primera infección se pueden producir de 30 al 90 % de

abortos en las hembras afectadas (Aitken y Longbottom, 2007, Nietfeld, 2001), con lo cual el impacto productivo y económico es considerable (Longbottom, 2004). Además, las hembras que padecen infecciones crónicas tienen pocas posibilidades de recuperar su potencial productivo (Amin y Wilsmore, 1995, Entrican *et al.*, 2001). La clamidiosis representa también un riesgo zoonótico para las personas que se encuentran en contacto con los caprinos enfermos (Rodolakis y Yousef Mohamad, 2010), principalmente en personas inmunocomprometidas o embarazadas en las cuales se puede producir un aborto espontáneo (Aitken y Longbottom, 2007, Longbottom y Coulter, 2003). En consecuencia, es necesario conocer la distribución y prevalencia de *C. abortus* en los sistemas de producción para así establecer programas de monitoreo eficientes encaminados a controlar y erradicar la infección.

En el caso específico de los caprinos, el panorama epidemiológico nacional de *C. abortus* permanece aún incompleto para diferentes estados y zonas geográficas de México. Lo anterior a pesar de que diversos estudios han reportado la presencia de *C. abortus* en rebaños caprinos de Coahuila, Guanajuato, Jalisco, México, Puebla, Querétaro y Veracruz (Campos-Hernandez *et al.*, 2014, Escalante-Ochoa *et al.*, 1997b, Mora *et al.*, 2015, Sánchez-Rocha, 2014, Soriano-Vargas *et al.*, 2011). Sin embargo, en el estado de Sinaloa actualmente se desconoce la presencia de *C. abortus* en los sistemas de producción caprina. De acuerdo con los datos reportados por el Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera en 2018, Sinaloa ocupó el 13º lugar dentro del inventario caprino nacional debido a que registró para ese año un total de 180,159 cabezas de ganado caprino (SIAP, 2020). A nivel estatal predominan sistemas de producción de tipo extensivo debido principalmente al abaratamiento de los costos de producción, así como al mercado de productos caprinos de la región, en el cual existe un mayor consumo de carne que de leche. No obstante, también existen algunas explotaciones intensivas donde se produce leche y pie de cría en los que se requiere un manejo zootécnico mas estricto, así como dietas especificas para los caprinos durante cada etapa productiva.

Para evitar las perdidas productivas ocasionadas por *C. abortus*, es necesario conocer a detalle cual es el estado sanitario de los rebaños caprinos del país, principalmente en aquellos estados en los cuales no existe información sobre la presencia y magnitud de la infección provocada por *C. abortus*, además de que se requiere mantener una vigilancia continua en los estados donde se conoce la prevalencia de la bacteria. Por lo tanto, el objetivo de la presente investigación consistió en realizar un estudio epidemiológico para determinar la prevalencia de *C. abortus* en un rebaño de caprinos en el centro de Sinaloa, México.

3.6 MATERIAL Y MÉTODOS

3.6.1 Lugar de estudio, animales y diseño del estudio

Las condiciones de mantenimiento y manejo de los animales cumplieron con las recomendaciones del Consejo de Organizaciones Internacionales de Ciencias Médicas (Organización Mundial de la Salud, 2002) y la NOM-062-Z00-1999 para el manejo de animales de laboratorio (NORMA Oficial Mexicana NOM-062-ZOO-1999, 2001). El estudio se realizó entre 2016 y 2017 en un rebaño caprino localizado en el poblado de Mojolo a una Latitud: 24.885833 y Longitud: -107.417500 a 60 m.s.n.m. dentro del municipio de Culiacán, en la zona centro del estado de Sinaloa. El sitio de estudio se dedica a la producción de pie de cría de registro de las razas Nubia y Boer, cuya población se compone de 250 hembras (87 de raza Boer y 163 de raza Nubia) y siete machos (2 de raza Boer y 5 de raza Nubia). El rebaño cuenta con la certificación de hato libre de brucelosis; sin embargo, se presentó un historial de abortos durante años previos al estudio; principalmente en las hembras de primer parto.

Los animales fueron alimentados con una dieta a base de pasto sudan, alfalfa, maíz, pasta de soya, minerales para caprinos en reproducción (TMP, México), Zeolita, melaza y aceite vegetal (18.8 % de proteína, 3.1 m/cal/kg, 14.2 % de fibra cruda y 80.0 % materia seca). Las epocas de parto del rebaño coinciden con los períodos de estacionalidad reproductiva de las cabras (Diaz *et al.*, 2019). En el sitio en estudio se mantiene una mezcla de hembras, las cuales van desde

primalas hasta multiparas con doce partos. Con respecto a su condición corporal, las hembras incluidas en el estudio presentaron una condición corporal entre 3 y 4, de acuerdo con la escala que va de 1 al 5, donde 1 indica un animal desnutrido y 5 un animal obeso.

El estudio se dividió en dos etapas. En 2016, durante la primera etapa de la investigación se realizó un estudio observacional descriptivo de tipo transversal (Donis, 2013) para determinar la presencia de *C. abortus* en las hembras del rebaño que tuvieron un parto o aborto reciente (<30 días) al momento de colección de la muestra. De esta forma, se incluyeron en el estudio 135 de las 250 hembras del rebaño, las cuales cumplieron el criterio de inclusión definido. Adicionalmente, se evaluaron los siete machos del rebaño para confirmar la posibilidad de que estos pudieran ser positivos a la presencia de la bacteria y con ello transmitir la infección de forma venérea a las hembras. La importancia de dicha evaluación se basó en que durante la época reproductiva se utilizó monta natural para gestar a las hembras. Durante la segunda etapa, se realizó un estudio longitudinal durante dos períodos consecutivos de partos/abortos en un grupo de 32 hembras, las cuales fueron seleccionaron aleatoriamente de entre las 135 hembras evaluadas durante la primera etapa. El objetivo consistió en evaluar el posible cambio de la prevalencia de *C. abortus* entre los períodos de seguimiento. En ambos casos, los estudios se realizaron entre los meses de junio a diciembre debido a la estacionalidad reproductiva de las cabras (Diaz *et al.*, 2019).

3.6.2 Muestras de estudio

En ambos estudios se colectaron muestras de exudado vaginal de cada una de las hembras mediante un hisopo estéril. Las muestras se colectaron de 1-30 días posteriores al evento de parto o aborto. Inmediatamente después de la colección de las muestras, estas fueron transportadas al laboratorio a una temperatura de 4°C en tubos cónicos de polipropileno de 15 mL adicionado con 2 mL de medio de transporte SPF, que contiene: sacarosa, fosfato y glutamato, suplementado con 10 % de suero fetal bovino (SFB) y 50 μg/mL gentamicina (Sachse *et al.*, 2009). Una vez en el laboratorio, las muestras fueron congeladas a -20°C hasta su

procesamiento siguiendo el protocolo descrito por Mora *et al.* (2015). En el caso de los machos, las muestras se obtuvieron de prepucio (n=7) y semen (n=3), el cual fue recolectado mediante vagina artificial.

3.6.3 Aislamiento e identificación de *Chlamydia abortus* en cultivo celular

El aislamiento de la bacteria patógena en las muestras evaluadas, así como la propagación de la cepa de referencia *C. abortus* A.22 se realizó dentro de las instalaciones del Centro Nacional de Investigación Disciplinaria (CENID) Microbiología del Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP). Para la propagación se utilizaron monoestratos celulares de fibroblastos L929 de ratón, los cuales se cultivaron en botellas de poliestireno de 75 cm^2. Las células se cultivaron en Medio Mínimo Esencial de Eagle (MEM-C, GIBCO Life Technologies, Carlsbad, CA, USA) suplementado con 10 % de SFB, 1 % aminoácidos no esenciales, 1 % L-Glutamina y antibióticos (50 μg /mL gentamicina) en condiciones de humedad en incubadora a 37 °C y 5 % de CO_2 (Escalante-Ochoa *et al.*, 1996). Se utilizaron placas de poliestireno de 24 pozos (NUNC™, Thermo Scientific, Waltham, MA, USA), en los cuales se colocaron cubreobjetos de vidrio estériles de 12 mm de diámetro para la identificación de cuerpos clamidiales por inmunofluorescencia. La concentración celular que se empleó fue de 0.9 x 10^5 células por pozo, dejándose incubar 24 h hasta obtener 80-90 % de confluencia (Mora *et al.*, 2015).

Para el proceso de infección, una vez alcanzada la confluencia de 80-90% se retiró por completo el MEM-C y se agregaron 100 µL por pozo del sobrenadante de las muestras evaluadas. Cada placa contó con un control positivo (cepa *C. abortus* A22) y un testigo negativo, los cuales se incluyeron por duplicado. Las placas se incubaron con las muestras durante 1 h a 37 °C en una incubadora con rotación orbital a 50 rpm, una vez transcurrido ese tiempo se añadieron 900 μL adicionales de MEM-C por pozo y se incubaron a 37 °C en condiciones de humedad y 5 % CO_2 por 72 h. Al concluir el periodo de incubación, se realizó un raspado en los pozos de las placas sin cubreobjetos para obtener el tapete celular, las células junto con el MEM-C se conservaron en microtubos estériles identificados y

congelados a -70 °C. A las placas con cubreobjetos se les retiró MEM-C antes de realizar tres lavados de 5 min cada uno con solución salina de fosfatos (PBS). Posteriormente, se retiró el PBS y se fijó la muestra con 1 mL de metanol puro a -20 °C durante 10 min, una vez transcurrido ese tiempo se retiró el metanol y las placas se secaron a temperatura ambiente previo a su congelación a -70 °C.

3.6.4 Determinación de cuerpos de inclusión

Para identificar las inclusiones intracitoplasmáticas producidas por *Chlamydia spp.* se utilizó el kit comercial IMAGEN™ Chlamydia Immunofluorescence test (Thermo Scientific, OXOID, UK). La técnica de detección está basada en identificar el lipopolisacárido (LPS) de la bacteria mediante inmunofluorescencia directa al utilizar anticuerpos monoclonales anti-LPS acoplados a FITC. El procedimiento se realizó de acuerdo a las instrucciones del fabricante y siguiendo el procedimiento descrito por Vanrompay *et al.* (1994). Finalmente, la visualización y evaluación de las muestras se realizó de acuerdo a un protocolo previamente publicado (Mora *et al.*, 2015).

3.6.5 Identificación de *Chlamydia abortus* mediante PCR

Para identificar a *C. abortus* mediante PCR, se extrajo ADN de las muestras evaluadas. Adicionalmente, se extrajo ADN de fibroblastos infectados con la cepa de referencia (*C. abortus* A22) para ser utilizados como control positivo y ADN de fibroblastos sin infectar para ser utilizado como control negativo. En todos los casos se utilizó el kit comercial QIAamp DNA Mini de la marca QIAGEN de acuerdo con las especificaciones del fabricante. El cual está diseñado para la rápida purificación de ADN total utilizando la técnica de microcentrifugación. Se emplearon los iniciadores utilizados por Jiménez-Estrada *et al.* (2008): CpaX-1, 5'-ACGGTCACTTGGAAACAAGG-3', y CpaX-2, 3'-AGCAGAGGTTGGGCTCACTA-5'. Estos iniciadores amplifican un fragmento específico de *C. abortus* de 912 pares de bases del gen de la proteína de membrana externa polimórfica, POMP 90-91-B. El proceso de amplificación inició con 5 min de desnaturalización a 95 °C, seguida de 30 ciclos de amplificación. Cada ciclo consistió en desnaturalización a 95 °C por

un minuto, alineación a 60 °C por 30 segundos, extensión a 72 °C por un minuto y extensión final a 72 °C por 10 min. Los fragmentos amplificados fueron separados por electroforesis en gel de agarosa al 2.5 % y visualizados mediante tinción con bromuro de etidio.

3.6.6 Análisis estadístico

Para el análisis de los datos se utilizó una prueba de X^2 a dos colas para comparar la proporción de hembras positivas o negativas al patógeno de acuerdo con su desenlace reproductivo (parto o aborto). Adicionalmente, se realizó un análisis de componentes principales para visualizar el patrón de asociación entre las variables de las hembras: raza, positividad a *C. abortus*, desenlace reproductivo, edad y número de partos; frente a las características del estudio: positividad a clamidiosis y tiempo de recolección de la muestra. El modelo se construyó utilizando la matriz de covarianza de las variables (Aguirre-Benítez *et al.*, 2017, Pacheco-Velázquez *et al.*, 2019). Finalmente, en las hembras del estudio en seguimiento se realizó un análisis de regresión logística binaria para determinar si la presencia del patógeno (muestras positivas mediante aislamiento) se predice en función de alguna de las siguientes variables categóricas: raza, Nubia o Boer; período de evaluación, primer o segundo período; desenlace reproductivo, parto o aborto; edad, <3, 4-6 o >7 años; período de recolección de la muestra, <6 o >7 días; número de partos, <5, 6-8 o >9 partos. Para resumir los resultados se utilizó el odds ratio (OR), el cual en caso de resultar <1 se presentó con su recíproco (1/OR) (Romo-Barron *et al.*, 2019).

Todos los análisis se realizaron en el paquete estadístico SAS University Edition (SAS Institute, Cary, NC, USA). En todos los casos se consideró un valor de $p < 0.05$ como significativo. Las figuras se construyeron en el paquete estadístico Prism 8.0 (GraphPad, Inc., San Diego, CA, USA).

3.7 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.7.1 Primera etapa: estudio de prevalencia

En el estudio se encontró una prevalencia de clamidiosis del 55.6% en las hembras debido a que se detectó *C. abortus* mediante aislamiento en 75/135 muestras evaluadas (**Tabla 1**). De las muestras positivas, 92.0 % (69/75) se encontraron en cabras que tuvieron parto normal, mientras que el resto fue encontrado en hembras que presentaron aborto. De las cabras que tuvieron parto normal 55.2 % (69/125) resultaron positivas y 60 % (6/10) de las cabras que tuvieron aborto fueron detectadas como positivas a *C. abortus*. Por lo tanto, la prevalencia de clamidiosis fue similar ($p > 0.05$) entre los dos grupos de cabras. Adicionalmente, las 75 muestras que resultaron positivas mediante aislamiento se utilizaron para confirmar la presencia de la bacteria mediante PCR (**Figura 1**). Los resultados indicaron que en 13.3 % de las muestras (10/75) se detectó molecularmente la presencia de *C. abortus* (**Tabla 2**). A pesar de la baja concordancia entre los métodos, se confirmó la presencia del patógeno mediante PCR en 83.3 % (5/6) de las hembras que abortaron y que fueron detectadas como positivas mediante aislamiento. En contraste, la confirmación molecular de clamidiosis resultó menor en las cabras que tuvieron parto normal y que resultaron positivas mediante aislamiento (7.8 %, 5/64; $p < 0.05$). Es posible que la diferencia en el número de detecciones positivas por PCR se asocie con una menor disponibilidad de material genético debido a la disminución de la carga bacteriana de las muestras evaluadas, la cual se sabe que es mayor durante el parto o el aborto de las hembras infectadas (Longbottom y Coulter, 2003). En nuestro estudio, en algunos casos se obtuvieron las muestras hasta 30 días posteriores al evento de parto/aborto, con lo cual la excreción de bacterias pudo haber disminuido significativamente hasta generar una detección negativa por PCR (World Organization for Animal Health, 2018). No obstante, se requieren más estudios para evaluar la asociación entre el tiempo de muestreo y el resultado de diagnóstico molecular de la bacteria.

A pesar de la discrepancia entre los métodos evaluados, las técnicas moleculares (PCR convencional o PCR en tiempo real) se consideran el método

recomendado para la confirmación de casos clínicos de clamidiosis, así como para los estudios de vigilancia epidemiológica (World Organization for Animal Health, 2018). No obstante, tanto el aislamiento como el PCR se consideran técnicas complementarias de diagnóstico, las cuales además deben de corroborarse mediante análisis patológico para incrementar la precisión del diagnóstico (Borel *et al.*, 2018).

Tabla 1. Resultados del estudio de prevalencia de *Chlamydia abortus* en un rebaño caprino con problemas de aborto en la zona centro de Sinaloa, México.

		Resultado		
Técnica	Desenlace	Positiva	Negativa	Total[a]
Aislamiento	Parto	69	56	125
	Aborto	6	4	10
		75 (55.6%)	60 (44.4%)	135

[a] La detección de *C. abortus* se realizó mediante aislamiento en cultivo bacteriano. Se incluyeron 135/250 hembras del total del rebaño caprino, las cuales se seleccionaron debido a que presentaron parto o aborto reciente (<30 días).

Nuestros resultados demuestran por primera vez la presencia de *C. abortus* en cabras con problemas de aborto en la región centro del estado de Sinaloa. De esta forma, la detección de clamidiosis en Sinaloa amplia la distribución espacial de *C. abortus* dentro del territorio de México. Sin embargo, los estudios realizados hasta la fecha han evaluado la presencia de *C. abortus* en una cantidad muy reducida de estados, por lo cual es muy probable que se subestime la prevalencia real de la clamidiosis a nivel nacional.

En lo referente a ganado caprino, Campos-Hernandez *et al.* (2014) y Mora *et al.* (2015) reportaron prevalencias de 4.8 % y 23.8 % en Guanajuato, respectivamente. Mientras que en Querétaro se ha reportado una alta prevalencia de clamidiosis de entre 71.4 % y 100.0 % (Escalante-Ochoa *et al.*, 1997b, Sánchez-

Rocha, 2014). Por otra parte, Sánchez-Rocha (2014) reportaron una prevalencia heterogénea de 0.0 % hasta 28.0 % en hatos de Veracruz, Jalisco, Coahuila, Puebla. En ovinos, Jiménez-Estrada *et al.* (2008) reportó la presencia de *C. abortus* en rebaños del estado de México en donde encontró una prevalencia de 22.6 %, mientras que Escalante-Ochoa *et al.* (1996) evaluaron la presencia de clamidiosis en cinco regiones del altiplano mexicano, en los cuales encontraron una prevalencia conjunta de 92.8 %. Adicionalmente, en un estudio reciente realizado en los estados de Tlaxcala, Sonora, Chihuahua, Hidalgo, Chiapas, Querétaro y Estado de México, se encontró una prevalencia de *C. abortus* a nivel de muestra individual de entre 7.1 % y 13.1 % (Reséndiz *et al.*, 2020).

Tabla 2. Resultados de la confirmación por PCR de la presencia de *Chlamydia abortus* en 75 muestras positivas identificadas mediante aislamiento.

		Resultado		
Técnica	Desenlace	Positiva	Negativa	Total[a]
PCR	Parto	5	64	69
	Aborto	5	1	6
		10 (13.3%)	65 (86.7%)	75

[a] La detección de *C. abortus* se realizó mediante aislamiento en cultivo bacteriano. Se incluyeron 135/250 hembras del total del rebaño caprino, las cuales se seleccionaron debido a que presentaron parto o aborto reciente (<30 días).

La existencia de un mayor número de estados del país que presentan clamidiosis en los rebaños de pequeños rumiantes sigue la dinámica actual mundial, de acuerdo con la cual en años recientes se ha incrementado el número de países y regiones en los cuales se ha detectado *C. abortus*. Por ejemplo, en Argentina (Di Paolo *et al.*, 2019, Rojas *et al.*, 2018), China (Hu *et al.*, 2018b), Croacia (Spicic *et al.*, 2015b), Costa Rica (Villagra-Blanco *et al.*, 2015a), España (Tejedor-Junco *et al.*, 2019), Irán (Esmaeili *et al.*, 2015a, Heidari *et al.*, 2018) y Palestina (Jalboush *et al.*, 2017), entre otros.

Con respecto a la identificación de *C. abortus* en los machos evaluados, 2/7 muestras de hisopado prepucial y 1/3 muestras de semen resultaron positivas al patógeno. Los resultados obtenidos concuerdan con el trabajo realizado por Teankum *et al.* (2007) en donde se demuestra la presencia *C. abortus* en semen de caprinos. Jalboush *et al.* (2017) recientemente reportaron que en 53.3 % de las granjas ovinas que evaluaron en su estudio encontraron un macho seropositivo sexualmente activo. Además, a nivel individual en 2,608 machos analizados, encontraron una prevalencia de 13.7 % a *C. abortus*, con lo cual sugieren un problema potencial de transmisión venérea (Jalboush *et al.*, 2017). Nuestros resultados confirman que en el rebaño caprino evaluado el uso de machos infectados con clamidiosis se debe de considerar un factor de riesgo para la transmisión de la enfermedad por vía sexual hacia las hembras sanas del rebaño. En consecuencia, debido a que la presencia de machos infectados supone un riesgo para mantener e incrementar la prevalencia de clamidiosis, es necesario que en México se apliquen las medidas recomendadas por la Organización Mundial de Salud Animal (World Organization for Animal Health, 2019) para la importación de semen de pequeños rumiantes y así evitar la diseminación de la infección por esta vía.

Nuestros resultados representan el primer reporte de *C. abortus* en caprinos en el estado de Sinaloa, por lo cual se recomienda realizar más estudios de vigilancia epidemiológica a nivel estatal para determinar con mayor precisión la prevalencia de clamidiosis dentro del rebaño caprino de Sinaloa. Es posible que en el estado de Sinaloa existan rebaños de caprinos con características similares al que aquí se evaluó, dentro de los cuales al menos una parte de los problemas de aborto se deban a la clamidiosis. No obstante, la falta de pruebas diagnósticas accesibles aunado al desconocimiento de los productores pueden ocultar la prevalencia real de la enfermedad. Es por ello necesario el estudio de la bacteria para poder implementar medidas sanitarias de control y buen manejo sanitario contra la clamidiosis, tal como lo describen las guías de la Organización Mundial de Sanidad Animal (World Organization for Animal Health, 2019) para la importación de semovientes, embriones o semen con fines reproductivos. De hecho, estas

prácticas se deberían de extender dentro de los estados para evitar la propagación de la enfermedad hacia hatos sanos. A pesar de que en diferentes regiones del mundo se utiliza la vacunación como uno de los métodos más eficaces de control de la clamidiosis (Longbottom y Livingstone, 2006, Zhou *et al.*, 2018), en nuestro país no se utiliza dicha medida profiláctica. En consecuencia, sería útil evaluar en futuros estudios el efecto protector que confiere la vacunación en rebaños con alto riesgo de contagio.

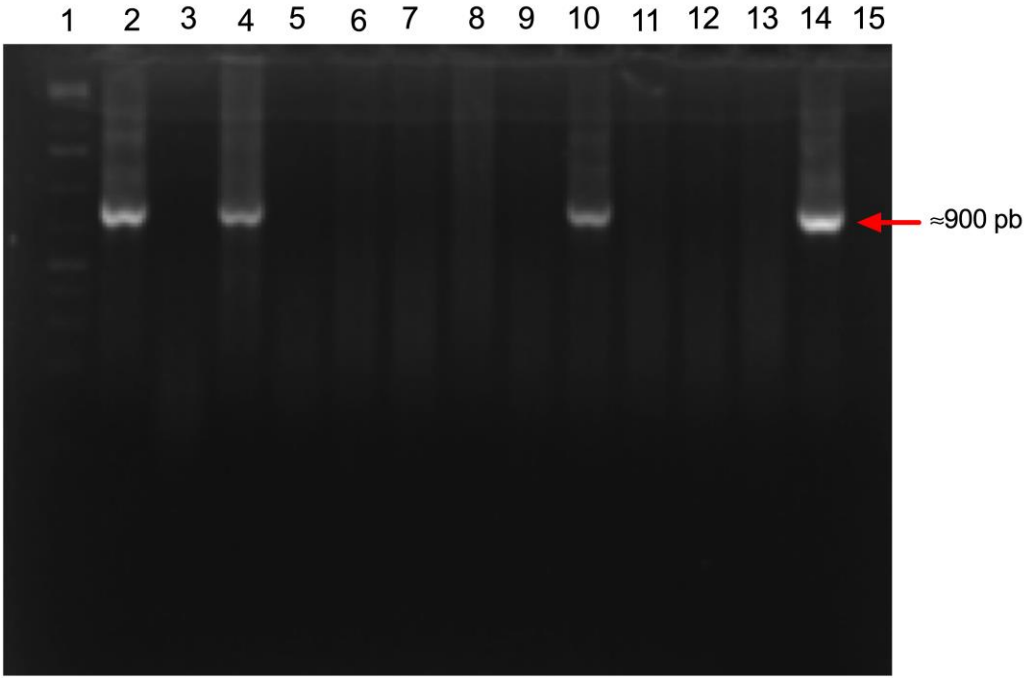

Figura 1. Imagen representativa de la identificación del producto de 912 pb correspondientes al gen de la proteína POMP 90-91-B de *C. abortus* en muestras provenientes de hembras positivas a clamidiosis mediante aislamiento. El tamaño de los productos de las muestras identificadas se presenta a la derecha. Carriles: 1) marcador de peso molecular, 2) control positivo, 3) control negativo, 4-15) muestras evaluadas.

3.7.2 Segunda etapa: estudio de seguimiento

Los resultados del estudio de seguimiento demostraron un incrementó significativo en la prevalencia de *C. abortus* en las 32 cabras que fueron evaluadas durante dos períodos de partos consecutivos. En este grupo seleccionado de cabras, el número de hembras positivas se incrementó de 2 a 17 y con ello la prevalencia pasó de 6.3 % a 53.1 % entre los períodos. No obstante, a pesar del incremento sustancial en el número de aislamientos positivos, el numero de abortos en las 32 cabras disminuyó al pasar de 5 a 2 entre ambos períodos. Sin embargo, la positividad al patógeno se incrementó entre las hembras que abortaron; todas las hembras que abortaron durante el primer período resultaron negativas a *C. abortus*, mientras que durante el segundo período de evaluación las dos hembras que abortaron resultaron positivas (**Tabla 3**).

Tabla 3. Resultados del estudio longitudinal de 32 hembras durante dos períodos consecutivos de partos.

Período	Desenlace	Positiva	Negativa	Total [a]
Primero	Parto	2	25	27
	Aborto	0	5	5
		2 (6.3%)	30 (93.7%)	32
Segundo	Parto	15	15	30
	Aborto	2	0	2
		17 (53.1%)	15 (46.9%)	32

[a] Se seleccionaron y siguieron durante dos épocas de parto a 32/135 hembras positivas mediante aislamiento que se detectaron en el estudio transversal.

En un estudio reciente de Reséndiz *et al.* (2020) en el cual se evaluaron factores de riesgo asociados a la presencia de clamidiosis en ovinos, los autores reportaron que los sistemas de producción de tipo intensivo y semi-intensivo favorecieron significativamente la presencia de *C. abortus* con respecto a los

sistemas extensivos. En este sentido, se ha encontrado que el contacto entre animales sanos y enfermos en los sistemas intensivos y semi-intensivos acelera la propagación de la bacteria patógena debido al hacinamiento al que son sujetos los animales en estos sistemas de producción (Barkallah *et al.*, 2018b, Heidari *et al.*, 2018). De acuerdo con dicha evidencia, es posible que el incremento de la positividad a *C. abortus* que observamos entre los dos períodos de seguimiento se asocie parcialmente con el hecho de que las hembras evaluadas en los dos períodos compartieron el corral de parto con el resto de las hembras del rebaño; entre las cuales se existieron hembras que abortaron y que resultaron positivas al patógeno. No obstante, es necesario realizar estudios adicionales que evalúen la asociación entre la positividad a clamidiosis y el tipo de manejo que reciben los animales en los sistemas de producción caprina de la región. Adicionalmente, dos ejemplares machos que realizaron empadre con este grupo de cabras resultaron positivos a clamidiosis; en consecuencia, no se descarta que los machos sean una fuente importante para diseminar la enfermedad por vía sexual como se ha demostrado previamente (Teankum *et al.*, 2007).

Si tomamos en cuenta que una elevada carga bacteriana es excretada en fluidos vaginales, placenta y en el recién nacido durante el parto o en el feto durante el aborto (Van den Brom *et al.*, 2012), entonces es posible sugerir que las condiciones en las que se alojan a las cabras durante las épocas de parto en los sistemas productivos de México influyen de forma importante en la diseminación de la enfermedad. Lo anterior debido a que las hembras sanas y las infectadas comparten las instalaciones. Adicionalmente, el potencial infeccioso de *C. abortus* se incrementa por la contaminación del medio ambiente mediante las descargas bacterianas de las hembras infectadas, con lo cual aumenta el riesgo de que las cabras sanas adquieren la bacteria por vía oral en el alimento o en el agua (Papp *et al.*, 1993).

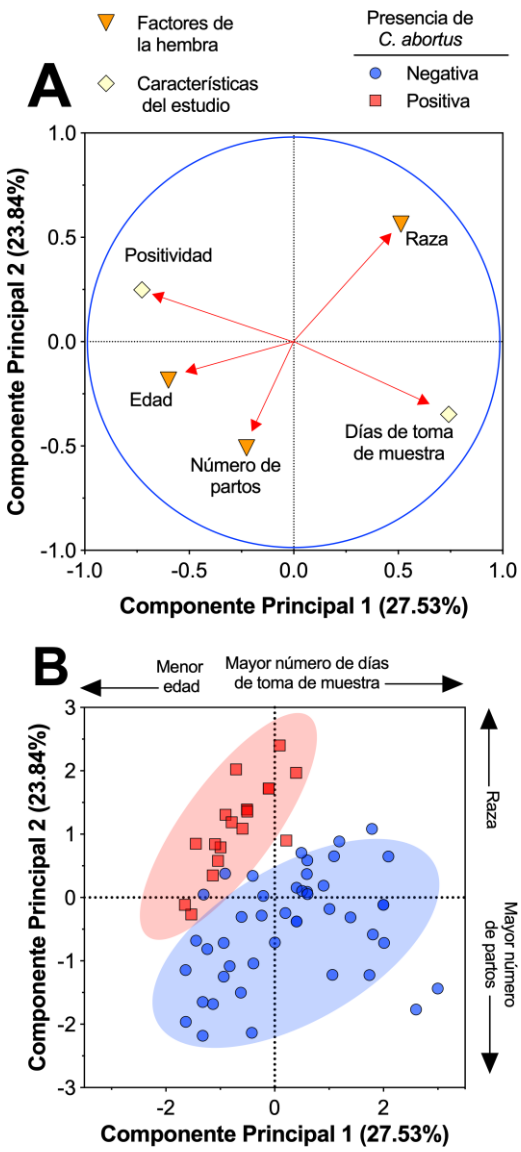

Figura 2. Patrón de asociación entre las características de las hembras evaluadas durante el estudio longitudinal y el resultado de clamidiosis. A) Valores de carga de las variables dentro de los dos componentes principales, los cuales explican 51.4% de la variación total y B) Puntuaciones individuales de las cabras evaluadas durante los dos períodos de seguimiento, las cabras se clasificaron de acuerdo con la presencia de *C. abortus*. La edad y el número de partos contribuyeron a la separación de los animales infectados de aquellos sanos.

En la **Figura 2A** se presenta el patrón de asociación entre las variables incluidas en el análisis de componentes principales. La edad y el número de partos de las cabras contribuyeron a la separación de las hembras que resultaron positivas con respecto a las negativas. En particular, las hembras positivas se asociaron con una menor edad y un menor número de partos, con lo cual se infiere que las hembras del rebaño que principalmente son afectadas por la clamidiosis tienden a ser hembras jóvenes con un número reducido de partos. Nuestro patrón de asociación contrastó con un estudio previo realizado en ovinos, en el cual se encontró que el grupo de hembras de entre 37 y 48 meses de edad presentó un incremento significativo de da probabilidad de resultar positivas a clamidiosis (Reséndiz *et al.*, 2020). En la **Figura 2B** se aprecia que aquellas hembras que resultaron negativas se separan por presentar un mayor número de partos. Además, también se encontró una asociación entre un mayor número de días en la toma de la muestra y el resultado negativo en las hembras. En este sentido, el intervalo de tiempo entre el evento de parto/aborto y la toma de muestra es importante para asegurar un diagnóstico apropiado mediante aislamiento, lo anterior debido a que se pueden producir diagnósticos falsos negativos a causa de la reducción de la carga bacteriana que expulsan las cabras afectadas (Longbottom y Coulter, 2003).

En la **Figura 3** se resumen los resultados del análisis de regresión logística que se utilizó para modelar la asociación entre el aislamiento positivo a *C. abortus* y las variables categóricas. Únicamente el período de evaluación resultó significativo dentro del modelo ya que la evaluación durante el primer período favoreció un resultado negativo del aislamiento. En consecuencia, durante el segundo período de seguimiento se incrementó en 41.6 veces la posibilidad (OR=0.024, IC 95%: 0.002 a 0.299) de que las hembras tuvieran un diagnóstico positivo de clamidiosis con respecto al primer período. Dicho resultado pone de manifiesto la capacidad infecciosa de la bacteria, ya que el número de cabras positivas pasó de 2 a 17 en tan solo dos épocas consecutivas de partos.

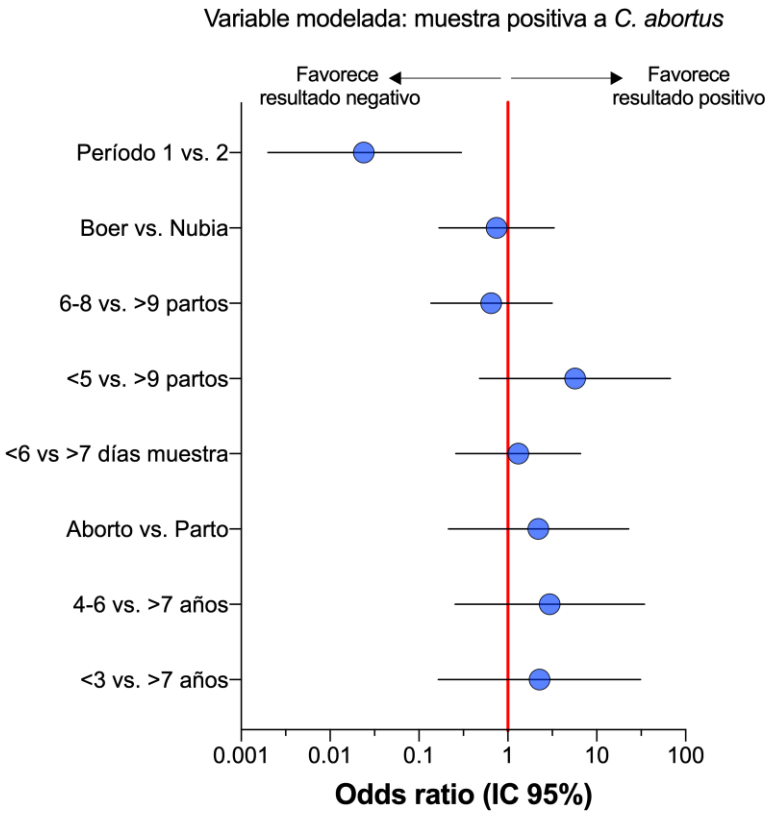

Figura 3. Valores estimados de odds ratio obtenidos mediante análisis de regresión logística binaria en las 32 hembras evaluadas durante dos períodos de seguimiento. Se muestran los valores estimados y el intervalo de confianza al 95% (IC 95%) tomando en cuenta como variable de modelado el resultado positivo de *C. abortus*.

CAPÍTULO 4. CONCLUSIONES

Los resultados de la presente investigación evidencian la presencia de *C. abortus* en caprinos con problemas de aborto dentro de la región centro del estado de Sinaloa. La prevalencia encontrada en el presente estudio fue superior al promedio nacional y a los valores encontrados en rebaños caprinos evaluados en otros estados. Ambos resultados sugieren la importancia de realizar estudios epidemiológicos dentro de las zonas caprinas del estado de Sinaloa, para así tener un panorama más completo y preciso de la magnitud de la infección causada por *C. abortus*. Además, nuestros resultados también demostraron que algunos machos están infectados con clamidiosis, por lo cual se vuelven un factor de riesgo para diseminar la infección de forma venérea. El incremento observado en la prevalencia de clamidiosis en el estudio de seguimiento sugiere que, en caso de no establecer medidas eficientes de detección y control de la enfermedad, la magnitud de la enfermedad puede incrementarse y con ello generar una mayor afectación en la salud y productividad de los animales infectados. En conclusión, es necesario implementar medidas para reducir la diseminación de la bacteria en los rebaños caprinos para así disminuir las pérdidas ocasionadas por los abortos.

CAPÍTULO 5. LITERATURA CITADA

Ababneh, H. S., Ababneh, M. M. K., Hananeh, W. M., Alsheyab, F. M., Jawasreh, K. I., Al-Gharaibeh, M. A. y Ababneh, M. M. 2014. Molecular identification of chlamydial cause of abortion in small ruminants in Jordan. *Trop Anim Health Prod,* 46**,** 1407-12.

Acha, P. N. y Szyfres, B. 2003. *Zoonoses and communicable diseases common to man and animals*, Pan American Health Org.

Aguirre-Benítez, E. L., Porras, M. G., Parra, L., González-Ríos, J., Garduño-Torres, D. F., Albores-García, D., Avendaño, A., Ávila-Rodríguez, M. A., Melo, A. I., Jiménez-Estrada, I.*, et al.* 2017. Disruption of behavior and brain metabolism in artificially reared rats. *Developmental Neurobiology,* 77**,** 1413-1429.

Aitken, I. y Longbottom, D. 2007. Chlamydial abortion. *In:* AITKEN, I. (ed.) *Diseases of sheep.* 4th ed. United Kingdom: Blackwell Publishing.

Amin, J. y Wilsmore, A. 1995. Studies on the early phase of the pathogenesis of ovine enzootic abortion in the non-pregnant ewe. *British Veterinary Journal,* 151**,** 141-155.

Apel, J., Hübschle, O. J. B. y Krauss, H. 1989. Seroprevalence of Chlamydia psittaci - specific Antibodies in Small Stock in Namibia − Epidemiological Study with an Enzyme - linked Immunosorbent Assay (ELISA). *Journal of Veterinary Medicine, Series B,* 36**,** 447-458.

Araujo, J. F., Pinheiro, R. R., Andrioli, A., Alves, F. S. F., Faccioli, P. Y., Eloy, A. M. X., Dos Santos, V. W. S., Peixoto, R. M. y Lima, A. M. C. 2018. Seroprevalence and risk factors of chlamydophila abortus infection in goats of the state of rio grande do norte, Brazil. *Acta Scientiae Veterinariae,* 46.

Astorga, R. J., Reguillo, L., Hernández, M., Cardoso-Toset, F., Tarradas, C., Maldonado, A. y Gómez-Laguna, J. 2014. Serosurvey on schmallenberg virus and selected ovine reproductive pathogens in culled ewes from southern Spain. *Transbound Emerg Dis,* 61**,** 4-11.

Bagdonas, J., Petkevicius, S., Russo, P., Pepin, M. y Salomskas, A. 2007. Prevalence and epidemiological features of ovine enzootic abortion in Lithuania. *Pol J Vet Sci,* 10**,** 239-44.

Barbosa, M. A., Salazar, F., Fernandez, P. y Montes De Oca, R. 2013. Deteccción de anticuerpos serológicos contra Chlamydophila abortus en dos grupos de personas expuestas a riesgo en explotaciones ovinas en Xalatlaco, México. *Tropical and Subtropical Agroecosystems,* 16**,** 483-486.

Barendregt, J. J., Doi, S. A., Lee, Y. Y., Norman, R. E. y Vos, T. 2013. Meta-analysis of prevalence. *Journal of Epidemiology and Community Health,* 67**,** 974-978.

Barkallah, M., Jribi, H., Ben Slima, A., Gharbi, Y., Mallek, Z., Gautier, M., Fendri, I. y Gdoura, R. 2018a. Molecular prevalence of Chlamydia and Chlamydia-like bacteria in Tunisian domestic ruminant farms and their influencing risk factors. *Transbound Emerg Dis,* 65**,** e329-e338.

Barkallah, M., Jribi, H., Ben Slima, A., Gharbi, Y., Mallek, Z., Gautier, M., Fendri, I. y Gdoura, R. 2018b. Molecular prevalence of Chlamydia and Chlamydia -

like bacteria in Tunisian domestic ruminant farms and their influencing risk factors. *Transboundary and Emerging Diseases,* 65**,** e329-e338.

Bazala, E. y Renda, J. 1992. Latent Chlamydia infections as the cause of health disorders in swine, cattle and sheep breeders in Czechoslovakia. *Berliner und Munchener tierarztliche Wochenschrift,* 105**,** 145-149.

Beena, V., Pawaiya, R. V. S., Gururaj, K., Singh, D. D., Mishra, A. K., Gangwar, N. K., Gupta, V. K., Singh, R., Sharma, A. K., Karikalan, M.*, et al.* 2017. Molecular etiopathology of naturally occurring reproductive diseases in female goats. *Vet World,* 10**,** 964-972.

Benkirane, A., Essamkaoui, S., El Idrissi, A., Lucchese, L. y Natale, A. 2015. A sero-survey of major infectious causes of abortion in small ruminants in Morocco. *Vet Ital,* 51**,** 25-30.

Bhandi, S., Pfukenyi, D. M., Matope, G., Murondoti, A., Tivapasi, M., Ndengu, M., Scacchia, M., Bonfini, B. y De Garine-Wichatitsky, M. 2019. Brucellosis and chlamydiosis seroprevalence in goats at livestock-wildlife interface areas of Zimbabwe. *Onderstepoort J Vet Res,* 86**,** e1-e9.

Borde, G., Lowhar, G. y Adesiyun, A. A. 2006. Toxoplasma gondii and Chlamydophila abortus in caprine abortions in Tobago: a sero-epidemiological study. *J Vet Med B Infect Dis Vet Public Health,* 53**,** 188-93.

Borel, N., Doherr, M. G., Vretou, E., Psarrou, E., Thoma, R. y Pospischil, A. 2004. Seroprevalences for ovine enzootic abortion in Switzerland. *Prev Vet Med,* 65**,** 205-16.

Borel, N., Polkinghorne, A. y Pospischil, A. 2018. A Review on Chlamydial Diseases in Animals: Still a Challenge for Pathologists? *Veterinary Pathology,* 55**,** 374-390.

Borel, N., Thoma, R., Spaeni, P., Weilenmann, R., Teankum, K., Brugnera, E., Zimmermann, D., Vaughan, L. y Pospischil, A. 2006. Chlamydia-related abortions in cattle from Graubunden, Switzerland. *Veterinary Pathology,* 43**,** 702-708.

Borenstein, M., Hedges, L. y Rothstein, H. 2007. Meta-analysis: Fixed effect vs. random effects. *Meta-analysis. com*.

Borenstein, M., Higgins, J. P., Hedges, L. V. y Rothstein, H. R. 2017. Basics of meta - analysis: I2 is not an absolute measure of heterogeneity. *Research synthesis methods,* 8**,** 5-18.

Borujeni, M. P., Bakhtiari, N. M., Hajikolaei, M. R. H. y Mousavi, S. M. 2019. Chlamydia abortus infection in goats in the southwest of Iran. *Revue de Médecine Vétérinaire,* 170**,** 9-14.

Brown, C. C., Olander, H. J., Castro, A. E. y Behymer, D. E. 1989. Prevalence of antibodies in goats in north-eastern Brazil to selected viral and bacterial agents. *Trop Anim Health Prod,* 21**,** 167-9.

Buxton, D., Anderson, I., Longbottom, D., Livingstone, M., Wattegedera, S. y Entrican, G. 2002. Ovine chlamydial abortion: characterization of the inflammatory immune response in placental tissues. *Journal of comparative pathology,* 127**,** 133-141.

Campos-Hernandez, E., Vazquez-Chagoyan, J. C., Salem, A. Z., Saltijeral-Oaxaca, J. A., Escalante-Ochoa, C., Lopez-Heydeck, S. M. y De Oca-Jimenez, R. M. 2014. Prevalence and molecular identification of Chlamydia abortus in commercial dairy goat farms in a hot region in Mexico. *Tropical Animal Health and Production,* 46**,** 919-24.

Castro-Flores, R., Diaz-Aparicio, E., Limon-Gonzalez, M. M., Romero-Jarillo, A., Enriquez-Verdugo, I., Castro Del Campo, N., Rodriguez-Gaxiola, M. A., Montero-Pardo, A., Diaz, D. y Gaxiola, S. M. 2020. Prevalencia de Chlamydia abortus en cabras con problemas de aborto en la zona centro de Sinaloa, México. *Biotecnia,* 11**,** 115-125.

Chahota, R., Gupta, S., Bhardwaj, B., Malik, P., Verma, S. y Sharma 2015. Seroprevalence studies on animal chlamydiosis amongst ruminants in five states of India. *Vet World,* 8**,** 72-5.

Cheong, H. C., Lee, C. Y. Q., Cheok, Y. Y., Tan, G. M. Y., Looi, C. Y. y Wong, W. F. 2019. Chlamydiaceae: Diseases in Primary Hosts and Zoonosis. *Microorganisms,* 7.

Chisu, V., Porcu, R., Tanda, A. y Masala, G. 2013. First isolation and characterization of Chlamydophila abortus from abortion tissues of sheep in Sardinia, Italy. *Vet Ital,* 49**,** 331-4.

Di Blasio, A., Traversa, A., Giacometti, F., Chiesa, F., Piva, S., Decastelli, L., Dondo, A., Gallina, S. y Zoppi, S. 2019. Isolation of Arcobacter species and other neglected opportunistic agents from aborted bovine and caprine fetuses. *BMC Vet Res,* 15**,** 257.

Di Paolo, L. A., Alvarado Pinedo, M. F., Origlia, J., Fernandez, G., Uzal, F. A. y Traveria, G. E. 2019. First report of caprine abortions due to Chlamydia abortus in Argentina. *Veterinary Medicine and Science,* 5**,** 162-167.

Diaz, D., Rosiles, R. J., Urias-Castro, C. J., Rodriguez-Gaxiola, M. A., Gaxiola, S. M. y Montero-Pardo, A. 2019. Systematic review and meta-analysis of the efficacy of reproductive management practices used to induce resumption of ovarian cyclical activity in anestrous does. *Preventive Veterinary Medicine,* 169**,** 104709.

Diaz, J. C. M., Aparicio, E. D., Lopez, E. H., Guemes, F. S., Ochoa, C. E., Villarreal, S. J. y Arellano-Reynoso, B. 2015. Isolation of Chlamydia abortus in dairy goat herds and its relation to abortion in Guanajuato, Mexico. *Veterinaria Mexico,* 2.

Diaz, J. M., Fernández, G., Prieto, A., Valverde, S., Lago, N., Díaz, P., Panadero, R., López, C., Morrondo, P. y 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**,** 335-8.

Donis, J. H. 2013. Tipos de diseños de los estudios clínicos y epidemiológicos. *Avances en biomedicina,* 2**,** 76-99.

Entrican, G., Buxton, D. y Longbottom, D. 2001. Chlamydial infection in sheep: immune control versus fetal pathology. *Journal of the Royal Society of Medicine,* 94**,** 273-277.

Escalante-Ochoa, C., Diaz-Aparicio, E., Segundo-Zaragoza, C. y Suarez-Guemes, F. 1997a. Isolation of Chlamydia psittaci involved in abortion of goats in Mexico: first report. *Rev Latinoam Microbiol,* 39**,** 117-21.

Escalante-Ochoa, C., Diaz-Aparicio, E., Segundo-Zaragoza, C. y Suarez-Guemes, F. 1997b. Isolation of Chlamydia psittaci involved in abortion of goats in Mexico: first report. *Revista Latinoaméricana de Microbiología,* 39**,** 117-122.

Escalante-Ochoa, C., Lazcano, C. y SoberóN, A. Chlamydophila spp como agente zoonótico en México. XXXVIII Reunión Nacional de Investigación Pecuaria 2001 Tuxtla Gutierrez, Chiapas, México.

Escalante-Ochoa, C., Rivera-Flores, A., Trigo-Tavera, F. y Romero-Martinez, J. 1996. Detection of Chlamydia psittaci in enteric subclinical infections in adult sheep, through cell culture isolation. *Revista latinoamericana de microbiologia,* 38**,** 17-23.

Esmaeili, H., Bolourchi, M. y Mokhber-Dezfouli, M. R. 2015a. Seroprevalence of Chlamydia abortus infection in sheep and goats in Iran. *Iranian Journal of Veterinary Medicine,* 9**,** 73-77.

Esmaeili, H., Bolourchi, M. y Mokhber-Dezfouli, M. R. 2015b. Seroprevalence of Chlamydia abortus infection in sheep and goats in Iran. *Iranian Journal of Veterinary Medicine,* 9**,** 73-77, Pe11.

Esmaeili, H., Hamedi, M. y Madani, S. A. 2017. Isolation of Chlamydia spp. from ewes and does in Iran. *Archives of Razi Institute,* 72**,** 249-253.

Everett, K. D., Bush, R. M. y Andersen, A. A. 1999. Emended description of the order Chlamydiales, proposal of Parachlamydiaceae fam. nov. and Simkaniaceae fam. nov., each containing one monotypic genus, revised

taxonomy of the family Chlamydiaceae, including a new genus and five new species, and standards for the identification of organisms. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology,* 49**,** 415-440.

Gerber, A., Thoma, R., Vretou, E., Psarrou, E., Kaiser, C., Doherr, M. G., Zimmermann, D. R., Polkinghorne, A., Pospischil, A. y Borel, N. 2007. Ovine Enzootic Abortion (OEA): a comparison of antibody responses in vaccinated and naturally-infected swiss sheep over a two year period. *BMC Vet Res,* 3**,** 24-24.

Giangaspero, M., Bonfini, B., Orusa, R., Savini, G., Osawa, T. y Harasawa, R. 2013. Epidemiological survey for Toxoplasma gondii, Chlamydia psittaci var. ovis, Mycobacterium paratuberculosis, Coxiella burnetii, Brucella spp., leptospirosis and Orf virus among sheep from northern districts of Japan. *J Vet Med Sci,* 75**,** 679-84.

Graham, A. L., Nussey, D. H., Lloyd-Smith, J. O., Longbottom, D., Maley, M., Pemberton, J. M., Pilkington, J. G., Prager, K. C., Smith, L., Watt, K. A.*, et al.* 2016. Exposure to viral and bacterial pathogens among Soay sheep (Ovis aries) of the St Kilda archipelago. *Epidemiol Infect,* 144**,** 1879-88.

Greco, G., Totaro, M., Madio, A., Tarsitano, E., Fasanella, A., Lucifora, G. y Buonavoglia, D. 2005. Detection of Chlamydophila abortus in sheep and goat flocks in southern Italy by PCR using four different primer sets. *Vet Res Commun,* 29 Suppl 1**,** 107-15.

Griffiths, P. C., Plater, J. M., Horigan, M. W., Rose, M. P., Venables, C. y Dawson, M. 1996. Serological diagnosis of ovine enzootic abortion by comparative inclusion immunofluorescence assay, recombinant lipopolysaccharide enzyme-linked immunosorbent assay, and complement fixation test. *J Clin Microbiol,* 34**,** 1512-8.

Güler, L., Hadimli, H. H., Erganis, O., Ates, M., Ok, U. y Gündüz, K. 2006. Field evaluation of a PCR for the diagnosis of chlamydial abortion in sheep. *Vet Rec,* 159**,** 742-5.

Gupta, S., Chahota, R., Bhardwaj, B., Malik, P., Verma, S. y Sharma, M. 2015. Identification of Chlamydiae and Mycoplasma species in ruminants with ocular infections. *Lett Appl Microbiol,* 60**,** 135-9.

Gyles, C. L., Prescott, J. F., Songer, J. G. y Thoen, C. O. 2008. *Pathogenesis of bacterial infections in animals*, John Wiley & Sons.

Hailat, N., Khlouf, S., Ababneh, M. y Brown, C. 2018. Pathological, immunohistochemical and molecular diagnosis of abortions in small ruminants in Jordan with Reference to Chlamydia abortus and Brucella melitensis. *Pakistan Veterinary Journal,* 38**,** 109-112.

Hazlett, M. J., Mcdowall, R., Delay, J., Stalker, M., Mcewen, B., Van Dreumel, T., Spinato, M., Binnington, B., Slavic, D., Carman, S.*, et al.* 2013. A 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**,** 359-68.

Hedstrom, O., Sonn, R., Dearing, P., Snyder, S. P. y Lassen, E. D. 1989. Measurement of IgG concentration in ovine fetal fluids: a useful diagnostic test. *J Vet Diagn Invest,* 1**,** 128-31.

Heidari, S., Derakhshandeh, A., Firouzi, R., Ansari-Lari, M., Masoudian, M. y Eraghi, V. 2018. Molecular detection of Chlamydophila abortus, Coxiella burnetii, and Mycoplasma agalactiae in small ruminants' aborted fetuses in southern Iran. *Tropical Animal Health and Production,* 50**,** 779-785.

Higgins, J. P., Thomas, J., Chandler, J., Cumpston, M., Li, T., Page, M. J. y Welch, V. A. 2019. *Cochrane handbook for systematic reviews of interventions*, John Wiley & Sons.

Hinton, D., Shipley, A., Galvin, J., Harkin, J. y Brunton, R. 1993. Chlamydiosis in workers at a duck farm and processing plant. *Australian Veterinary Journal,* 70**,** 174-176.

Hireche, S., Ababneh, M. M. K., Bouaziz, O. y Boussena, S. 2016. Seroprevalence and molecular characterization of Chlamydia abortus in frozen fetal and placental tissues of aborting ewes in northeastern Algeria. *Trop Anim Health Prod,* 48**,** 255-62.

Hireche, S., Bouaziz, O., Djenna, D., Boussena, S., Aimeur, R., Kabouia, R. y 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**,** 467-73.

Hobson, D. y Morgan-Capner, P. 1988. Chlamydial antibodies in farmers in north-west England. *Epidemiology & Infection,* 101**,** 397-404.

Hosein, E., Saadati, D., Najimi, M. y Hassanpour, M. 2019. A Study on Mycoplasma agalactiae and Chlamydophila abortus in Aborted Ovine Fetuses in Sistan and Baluchestan region, Iran. *Arch Razi Inst,* 74**,** 295-301.

Hovingh, E. 2009. Abortions in dairy cattle I: Common causes of abortions.

Hu, S., Li, F., Zheng, W. y Liu, G. 2018a. Seroprevalence and risk factors of Chlamydia abortus infection in goats in Hunan province, subtropical China. *Vector Borne and Zoonotic Diseases,* 18**,** 500-503.

Hu, S. F., Li, F., Zheng, W. B. y Liu, G. H. 2018b. Seroprevalence and Risk Factors of Chlamydia abortus Infection in Goats in Hunan Province, Subtropical China. *Vector-Borne and Zoonotic Diseases,* 18**,** 500-503.

Huang, S. Y., Wu, S. M., Xu, M. J., Zhou, D. H., Danba, C., Gong, G. y Zhu, X. Q. 2013. First record of Chlamydia abortus seroprevalence in Tibetan sheep in Tibet, China. *Small Ruminant Research,* 112**,** 243-245.

Hunter, J. P., Saratzis, A., Sutton, A. J., Boucher, R. H., Sayers, R. D. y Bown, M. J. 2014. In meta-analyses of proportion studies, funnel plots were found to be an inaccurate method of assessing publication bias. *Journal of clinical epidemiology,* 67**,** 897-903.

Jalboush, N., Atalla, H. y Alzuheir, I. 2017. Detection of Chlamydophila abortus antibody in active reproductive rams in sheep herds in northern Palestine. *Revue de Medecine Veterinaire,* 168**,** 192-196.

Jelocnik, M., Laurence, M., Murdoch, F. R. y Polkinghorne, A. 2019a. Detection of Chlamydiaceae in ocular swabs from Australian pre-export feedlot sheep. *Aust Vet J,* 97**,** 401-403.

Jelocnik, M., Taylor-Brown, A., Dea, C., Anstey, S., Bommana, S., Masters, N., Katouli, M., Jenkins, C. y Polkinghorne, A. 2019b. Detection of a range of genetically diverse chlamydiae in Australian domesticated and wild ungulates. *Transbound Emerg Dis,* 66**,** 1132-1137.

Jiménez-Estrada, J. M., Escobedo-Guerra, M. R., Arteaga-Troncoso, G., López-Hurtado, M., Haro-Cruz, M. D., Jiménez, R. M. y Guerra-Infante, F. M. 2008. Detection of Chlamydophila abortus in sheep (Ovis aries) in Mexico. *American Journal of Animal and Veterinary Sciences*.

Jones, G. E., Jones, K. A., Machell, J., Brebner, J., Anderson, I. E. y How, S. 1995. Efficacy trials with tissue-culture grown, inactivated vaccines against chlamydial abortion in sheep. *Vaccine,* 13**,** 715-723.

Kauffold, J., Henning, K., Bachmann, R., Hotzel, H. y Melzer, F. 2007. The prevalence of chlamydiae of bulls from six bull studs in Germany. *Animal Reproduction Science,* 102**,** 111-121.

Kauffold, J., Wehrend, A., Sigmarsson, H. y Hoopsa, M. 2014. Chlamydia and Chlamydophilia in small ruminants and other farm animals. *Clinical Theriogenology,* 6**,** 255-260.

Kennedy, H. E., Mccullough, S. J., Graham, D., Cassidy, J., Malone, F. E. y Ellis, W. A. 2001. Detection of chlamydial antibody by fetal serology--an aid to the diagnosis of ovine abortion. *J Vet Diagn Invest,* 13**,** 30-5.

Kirkbride, C. A. 1993. Diagnoses in 1,784 ovine abortions and stillbirths. *J Vet Diagn Invest,* 5**,** 398-402.

Krkalic, L., Satrovic, E., Varatanovic, N., Dzaja, P. y Severin, K. 2016. Seroprevalence of Chlamydia abortus in sheep in Bosnia and Herzegovina. *Veterinarski Arhiv,* 86**,** 373-381.

Kuo, C. y Stephens, R. 2011. Family I. Chlamydiaceae. *In:* KRIEG, N., STALEY, J., BROWN, D., HEDLUND, B., PASTER, B., WARD, N., LUDWIG, W. & WHITMAN, W. (eds.) *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology.* 2 ed. New York, USA: Springer.

Lazcano, A. C. 2006. *Detección de Chlamydophila spp en rebaños caprinos del estado de Michoacán mediante técnica inmunodiagnóstica ELISA y aislamiento bacteriológico* Licenciatura, Universidad Nacional Autónoma de México.

Lean, I. J., Rabiee, A. R., Duffield, T. F. y Dohoo, I. R. 2009. Invited review: Use of meta-analysis in animal health and reproduction: methods and applications. *J Dairy Sci,* 92**,** 3545-65.

Lenzko, H., Moog, U., Henning, K., Lederbach, R., Diller, R., Menge, C., Sachse, K. y Sprague, L. D. 2011. High frequency of chlamydial co-infections in clinically healthy sheep flocks. *BMC Vet Res,* 7**,** 29-29.

Liao, Y. K., Chain, C. Y., Lu, Y. S., Li, N. J., Tsai, H. J. y Liou, P. P. 1997. Epizootic of Chlamydia psittaci infection in goats in Taiwan. *J Basic Microbiol,* 37**,** 327-33.

Liberati, A., Altman, D. G., Tetzlaff, J., Mulrow, C., Gotzsche, P. C., Ioannidis, J. P., Clarke, M., Devereaux, P. J., Kleijnen, J. y Moher, D. 2009. The PRISMA statement for reporting systematic reviews and meta-analyses of studies that evaluate health care interventions: explanation and elaboration. *PLoS Med,* 6**,** e1000100.

Livingstone, M., Wheelhouse, N., Maley, S. W. y Longbottom, D. 2009. Molecular detection of Chlamydophila abortus in post-abortion sheep at oestrus and subsequent lambing. *Veterinary Microbiology,* 135**,** 134-41.

Longbottom, D. 2004. Chlamydial infections of domestic ruminants and swine: new nomenclature and new knowledge. *The Veterinary Journal,* 168**,** 9-11.

Longbottom, D. y Coulter, L. 2003. Animal chlamydioses and zoonotic implications. *Journal of comparative pathology,* 128**,** 217-244.

Longbottom, D. y Livingstone, M. 2006. Vaccination against chlamydial infections of man and animals. *Veterinary Journal,* 171**,** 263-75.

Loureiro, D., Moura-Costa, L. F., Jordão, R. S., Menezes, N. C., Macedo, E. S., Guimarães, T. S., Meyer, R. y Portela, R. W. 2017. Seroprevalence of antibodies against bacterial pathogens in sheep from Equatorial Guinea. *Rev Sci Tech,* 36**,** 965-970.

Mainar-Jaime, R. C., De La Cruz, C. y Vázquez-Boland, J. A. 1998. Epidemiologic study of chlamydial infection in sheep farms in Madrid, Spain. *Small Ruminant Research,* 28**,** 131-138.

Marsilio, F., Di Martino, B., Di Francesco, C. E. y Meridiani, I. 2005. Diagnosis of ovine chlamydial abortions by PCR-RFLP performed on vaginal swabs. *Veterinary Research Communications,* 29**,** 99-106.

Masala, G., Porcu, R., Daga, C., Denti, S., Canu, G., Patta, C. y Tola, S. 2007. Detection of pathogens in ovine and caprine abortion samples from Sardinia, Italy, by PCR. *J Vet Diagn Invest,* 19**,** 96-8.

Masala, G., Porcu, R., Sanna, G., Tanda, A. y Tola, S. 2005. Role of Chlamydophila abortus in ovine and caprine abortion in Sardinia, Italy. *Vet Res Commun,* 29 Suppl 1**,** 117-23.

Matthews, J. G. 1999. *Diseases of the Goat*, Wiley Online Library.

Mccauley, L. M. E., Lancaster, M. J., Butler, K. L. y Ainsworth, C. G. V. 2010. Serological analysis of Chlamydophila abortus in Australian sheep and implications for the rejection of breeder sheep for export. *Aust Vet J,* 88**,** 32-8.

Michalopoulou, E., Leigh, A. J. y Cordoba, L. G. 2007. Detection of the genome of Chlamydophila abortus in samples taken from the uteri of 304 sheep at an abattoir. *Vet Rec,* 161**,** 153-5.

Miller, M. A., Turk, J. R., Nelson, S. L., Van Der Lek, A. P., Solorzano, R., Fales, W. H., Morehouse, L. G. y Gosser, H. S. 1990. Chlamydial infection in aborted and stillborn lambs. *J Vet Diagn Invest,* 2**,** 55-8.

Moeller, R. B. 2001. Causes of caprine abortion: diagnostic assessment of 211 cases (1991-1998). *J Vet Diagn Invest,* 13**,** 265-70.

Moher, D., Shamseer, L., Clarke, M., Ghersi, D., Liberati, A., Petticrew, M., Shekelle, P. y Stewart, L. A. 2015. Preferred reporting items for systematic review and meta-analysis protocols (PRISMA-P) 2015 statement. *Systematic reviews,* 4**,** 1.

Mora, J. C., Díaz, E., Herrera, E., Suárez-Güemez, F., Escalante, C., Jaimes, S. y Arellano, B. 2015. Aislamiento de Chlamydia abortus en rebaños caprinos lecheros y su relación con casos de aborto en Guanajuato, México. *Veterinaria México,* 2.

Mora, J. C., Escalante-Ochoa, C., DíAz, A. E., Jaimes, V. M. S., MartíNez, G. y Trujillo, G. B. Determinación serológica de Chlamydophila abortus en ganado caprino lechero en México. XXI Congreso Panamericano de Ciencias Veterinarias, 2008 Guadalajara, Jalisco, México.

Nagington, J. 1984. Psittacosis/ornithosis in Cambridgeshire 1975–1983. *Epidemiology & Infection,* 92**,** 9-19.

Nietfeld, J. C. 2001. Chlamydial infections in small ruminants. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice,* 17**,** 301-314.

Nikolakopoulou, A., Mavridis, D. y Salanti, G. 2014. Demystifying fixed and random effects meta-analysis. *Evidence Based Mental Health,* 17**,** 53-57.

Norma Oficial Mexicana Nom-062-Zoo-1999. 2001. *Especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio.* [Online]. Disponible: https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/203498/NOM-062-ZOO-1999_220801.pdf [Consultado 20-10-2020].

Nyaga, V. N., Arbyn, M. y Aerts, M. 2014. Metaprop: a Stata command to perform meta-analysis of binomial data. *Archives of Public Health,* 72**,** 39.

Organización Mundial De La Salud 2002. CIOMS, Pautas éticas internacionales para la Investigación Biomédica involucrando seres humanos. Ginebra, Suiza: Organización Mundial de la Salud.

Pacheco-Velázquez, S. C., Gallardo-Pérez, J. C., Díaz, D., Adán-Ladrón De Guevara, A., Robledo-Cadena, D. X., Saavedra, E., Ruiz-Godoy, L., Jimenez-Hernández, L. R., Vargas-Barrón, J., Aguilar-Ponce, J. L.*, et al.* 2019. Heart myxoma develops oncogenic and metastatic phenotype. *Journal of Cancer Research and Clinical Oncology,* 145**,** 1283-1295.

Palomares, E. G., Mejia, P., Romero, F., De La Cruz, L., Jimenez, H., Leyva, J. C., Morales, M. y Diaz-Aparicio, E. 2020. Frequency and risk factors associated with the presence of Chlamydia abortus in flocks of sheep in Mexico. *REVISTA MEXICANA DE CIENCIAS PECUARIAS,* 11**,** 783-794.

Papp, J. R., Shewen, P. E. y Gartley, C. J. 1993. Chlamydia psittaci infection and associated infertility in sheep. *Canadian Journal of Veterinary Research,* 57**,** 185.

Pinheiro Junior, J. W., Mota, R. A., Piatti, R. M., Oliveira, A. a. D. F., Silva, A. M. D., Abreu, S. R. D. O., Anderlini, G. A. y Valença, R. M. B. 2010. Seroprevalence of antibodies to chlamydophila abortus in ovine in the state of Alagoas, Brazil. *Braz. j. microbiol,* 41**,** 358-364.

Pospischil, A., Thoma, R., Hilbe, M. y Grest, P. 2002. Abortion in woman caused by caprine Chlamydophila abortus (Chlamydia psittaci serovar 1). *Swiss medical weekly,* 132.

Qin, S.-Y., Yin, M.-Y., Cong, W., Zhou, D.-H., Zhang, X.-X., Zhao, Q., Zhu, X.-Q., Zhou, J.-Z. y Qian, A.-D. 2014a. Seroprevalence and risk factors of Chlamydia abortus infection in Tibetan sheep in Gansu province, northwest China. *ScientificWorldJournal,* 2014**,** 193464-193464.

Qin, S. Y., Yin, M. Y., Cong, W., Zhou, D. H., Zhang, X. X., Zhao, Q., Zhu, X. Q., Zhou, J. Z. y Qian, A. D. 2014b. Seroprevalence and risk factors of Chlamydia abortus infection in Tibetan sheep in Gansu province, northwest China. *ScientificWorldJournal,* 2014**,** 193464.

Reinhold, P., Sachse, K. y Kaltenboeck, B. 2011. Chlamydiaceae in cattle: commensals, trigger organisms, or pathogens? *The Veterinary Journal,* 189**,** 257-267.

Rekiki, A., Hammami, S. y Rodolakis, A. 2006. Comparative evaluation of a new commercial recombinant ELISA and the complement fixation test for the diagnosis of Chlamydophila abortus infection in naturally infected flocks in Tunisia. *Small Ruminant Research,* 66**,** 58-63.

Rekiki, A., Sidi-Boumedine, K., Souriau, A., Jemli, J., Hammami, S. y Rodolakis, A. 2002. Isolation and characterisation of local strains of Chlamydophila abortus (Chlamydia psittaci serotype 1) from Tunisia. *Vet Res,* 33**,** 215-22.

Reséndiz, E. G. P., Sánchez, P. M., Romero, F. A., De La Cruz Colín, L., Severiano, H. J., Corona, J. C. L., Pablos, M. I. M. y Aparicio, E. D. 2020. Frecuencia y factores de riesgo asociados a la presencia de Chlamydia abortus, en rebaños ovinos en México. *Revista Mexicana de Ciencias Pecuarias,* 11**,** 783-794.

Rodolakis, A. 2001. Chlamydiosis in goats. *Recent Advances in Goat Diseases (Tempesta, M. ed.), International Veterinary Information Service, Ithaca*.

Rodolakis, A. y Laroucau, K. 2015. Chlamydiaceae and chlamydial infections in sheep or goats. *Veterinary Microbiology,* 181**,** 107-118.

Rodolakis, A., Salinas, J. y Papp, J. 1998. Recent advances on ovine chlamydial abortion.

Rodolakis, A. y Souriau, A. 1986. Response of goats to vaccination with temperature-sensitive mutants of Chlamydia psittaci obtained by nitrosoguanidine mutagenesis. *Am J Vet Res,* 47**,** 2627-31.

Rodolakis, A. y Yousef Mohamad, K. 2010. Zoonotic potential of Chlamydophila. *Veterinary Microbiology,* 140**,** 382-91.

Rojas, M. D. C., Fort, M., Bettermann, S., Entrocassi, C., Costamagna, S. R., Sachse, K. y Rodriguez Fermepin, M. 2018. [Detection of Chlamydia abortus in bovine reproductive losses in the province of La Pampa, Argentina]. *Revista Argentina de Microbiologia,* 50**,** 269-274.

Romo-Barron, C. B., Diaz, D., Portillo-Loera, J. J., Romo-Rubio, J. A., Jimenez-Trejo, F. y Montero-Pardo, A. 2019. Impact of heat stress on the reproductive performance and physiology of ewes: a systematic review and meta-analyses. *International Journal of Biometeorology,* 63**,** 949-962.

Rossi, R. S., Rizzo, H., Piatti, R. M. y Gregory, L. 2012. Clinical signs and occurrence of antibodies anti-Chlamydophila abortus in ovines of São Paulo and Minas Gerais. *Ciencia Rural,* 42**,** 2018-2024.

Rubio-Navarrete, I., Montes-De-Oca-Jiménez, R., Acosta-Dibarrat, J., Monroy-Salazar, H. G., Morales-Erasto, V., Fernández-Rosas, P., Elghandour, M. M. M. Y. y Odongo, E. N. 2017. Prevalence of Chlamydia abortus Antibodies in Horses From the Northern State of Mexico and Its Relationship With Domestic Animals. *Journal of Equine Veterinary Science,* 56**,** 110-113.

Runge, M., Binder, A., Schotte, U. y Ganter, M. 2011. Investigations concerning the prevalence of Coxiella burnetii and Chlamydia abortus in sheep in correlation with management systems and abortion rate in Lower Saxony in 2004. *Berliner und Munchener Tierarztliche Wochenschrift,* 125**,** 138-143.

Sachse, K., Vretou, E., Livingstone, M., Borel, N., Pospischil, A. y Longbottom, D. 2009. Recent developments in the laboratory diagnosis of chlamydial infections. *Veterinary Microbiology,* 135**,** 2-21.

Sagarpa 2016. Acuerdo mediante el cual se dan a conocer en los Estados Unidos Mexicanos las enfermedades y plagas exóticas y endémicas de notificación obligatoria de los animales terrestres y acuáticos. México: Diario Oficial.

Samkange, A., Katsande, T. C., Tjipura-Zaire, G. y Crafford, J. E. 2010. Seroprevalence survey of Chlamydophila abortus infection in breeding goats on commercial farms in the Otavi Veterinary District, northern Namibia. *Onderstepoort J Vet Res,* 77**,** E1-5.

Sánchez-Rocha, L. 2014. *Presencia de Chlamydia abortus en cabras de México.* M. en C., Departamento de Microbiología e Inmunología, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootécnia, Universidad Nacional Autónoma de México.

Santos, C. S. a. B., Piatti, R. M., Azevedo, S. S., Alves, C. J., Higino, S. S. S., Silva, M. L. C. R., Brasil, A. W. L. y Gennari, S. M. 2012. Seroprevalence and risk factors associated with Chlamydophila abortus infection in dairy goats in the Northeast of Brazil. *Pesqui. vet. bras,* 32**,** 1082-1086.

Seth-Smith, H. M. B., Buso, L. S., Livingstone, M., Sait, M., Harris, S. R., Aitchison, K. D., Vretou, E., Siarkou, V. I., Laroucau, K., Sachse, K.*, et al.* 2017. European Chlamydia abortus livestock isolate genomes reveal unusual stability and limited diversity, reflected in geographical signatures. *BMC Genomics,* 18**,** 344.

Sharma, S. P., Baipoledi, E. K., Nyange, J. F. C. y Tlagae, L. 2003. Isolation of Toxoplasma gondii from goats with history of reproductive disorders and the prevalence of Toxoplasma and chlamydial antibodies. *Onderstepoort J Vet Res,* 70**,** 65-8.

Siap. 2020. Disponible: https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/564339/Inventario_2019_caprino.pdf [Consultado 20-10-2020].

Smith, M. C. y Sherman, D. M. 2009. *Goat medicine*, John Wiley & Sons.

Soriano-Vargas, E., Jiménez-Estrada, J. M., Salgado-Miranda, C., López-Hurtado, M., Escobedo-Guerra, M. R. y Guerra-Infante, F. M. 2011. Identificación de Chlamydophila abortusen un aborto ovino en Almoloya de Juárez, México. *REDVET. Revista Electrónica de Veterinaria,* 12**,** 1-6.

Spencer, W. y Johnson, F. 1983. Simple transport medium for the isolation of Chlamydia psittaci from clinical material. *The Veterinary Record,* 113**,** 535-536.

Spicic, S., Andrijanic, M., Duvnjak, S., Zdelar-Tuk, M., Stepanic, M. y Cvetnic, Z. 2015a. Emerging cases of chlamydial abortion in sheep and goats in Croatia and Bosnia and Herzegovina. *Berl Munch Tierarztl Wochenschr,* 128**,** 183-7.

Spicic, S., Duvnjak, S., Zdelar-Tuk, M., Laroucau, K., Reil, I., Velić, L., Eterović, T., Pavlinec, Ž., Šegota, M., Habrun, B.*, et al.* 2019. Identification and MLVA genotyping of Chalmydia abortus from abortion cases in small ruminants in Croatia. *Veterinarska Stanica,* 50**,** 307-314.

Spicic, S., Racić, I., Andrijanic, M., Duvnjak, S., Zdelar-Tuk, M., Stepanic, M. y Cvetnic, Z. 2015b. Emerging cases of chlamydial abortion in sheep and goats in Croatia and Bosnia and Herzegovina. *Berliner und Münchener Tierärztliche Wochenschrift,* 128**,** 188-187.

Spilovska, S., Reiterova, K., Kovácova, D., Bobákova, M. y Dubinsky, P. 2009. The first finding of Neospora caninum and the occurrence of other abortifacient agents in sheep in Slovakia. *Vet Parasitol,* 164**,** 320-3.

Stephens, R. S. 1999. *Chlamydia: intracellular biology, pathogenesis, and immunity*, Zondervan.

Stuen, S. y Longbottom, D. 2011. Treatment and control of chlamydial and rickettsial infections in sheep and goats. *Veterinary Clinics: Food Animal Practice,* 27**,** 213-233.

Szeredi, L. y Bacsadi, A. 2002. Detection of Chlamydophila (Chlamydia) abortus and Toxoplasma gondii in smears from cases of ovine and caprine abortion by the streptavidin-biotin method. *J Comp Pathol,* 127**,** 257-63.

Szeredi, L., Janosi, S., Tenk, M., Tekes, L., Bozso, M., Deim, Z. y Molnar, T. 2006. Epidemiological and pathological study on the causes of abortion in sheep and goats in Hungary (1998-2005). *Acta Vet Hung,* 54**,** 503-15.

Tavares, M. L., Braganca, M. J., Capela, M. F., Botelho, A. R. y Vicari, N. 2011. Diagnosis by PCR-REA of Chlamydophila species infections in late-term abortions of domestic ruminants. *Vet Rec,* 168**,** 619-619.

Teankum, K., Pospischil, A., Janett, F., Brugnera, E., Hoelzle, L. E., Hoelzle, K., Weilenmann, R., Zimmermann, D. R., Gerber, A., Polkinghorne, A*., et al.* 2007. Prevalence of chlamydiae in semen and genital tracts of bulls, rams and bucks. *Theriogenology,* 67**,** 303-10.

Tejedor-Junco, M. T., Gonzalez-Martin, M., Corbera, J. A., Santana, A., Hernandez, C. N. y Gutierrez, C. 2019. Preliminary evidence of the seroprevalence and risk factors associated with Chlamydia abortus infection in goats on the Canary Islands, Spain. *Tropical Animal Health and Production,* 51**,** 257-260.

Tejedor-Junco, M. T., González-Martín, M., Corbera, J. A., Santana, Á., Hernández, C. N. y Gutiérrez, C. 2018. Preliminary evidence of the seroprevalence and risk factors associated with Chlamydia abortus infection in goats on the Canary Islands, Spain. *Trop. anim. health prod*.

Thiele, D., Wittenbrink, M. M., Fischer, D. y Krauss, H. 1992. Evaluation of the polymerase chain reaction (PCR) for detection of Chlamydia psittaci in abortion material from ewes. *Zentralbl Bakteriol,* 277**,** 446-53.

Tomlinson, L., Barker, I. K., Foster, R. A., Mcewen, S. A., Menzies, P. I. y Shewen, P. E. 2000. Naturally occurring lesions of the uterine tube in sheep and serologic evidence of exposure to Chlamydophila abortus. *Can J Vet Res,* 64**,** 229-31.

Van Den Brom, R., Lievaart-Peterson, K., Luttikholt, S., Peperkamp, K., Wouda, W. y Vellema, P. 2012. Abortion in small ruminants in the Netherlands between 2006 and 2011. *Tijdschrift voor diergeneeskunde,* 137**,** 450-457.

Van Driel, M. L., De Sutter, A., De Maeseneer, J. y Christiaens, T. 2009. Searching for unpublished trials in Cochrane reviews may not be worth the effort. *Journal of clinical epidemiology,* 62**,** 838-844. e3.

Vanrompay, D., Van Nerom, A., Ducatelle, R. y Haesebrouck, F. 1994. Evaluation of five immunoassays for detection of Chlamydia psittaci in cloacal and conjunctival specimens from turkeys. *Journal of Clinical Microbiology,* 32**,** 1470-1474.

Villagra-Blanco, R., Dolz, G., Montero-Caballero, D. y Romero-Zuñiga, J. 2015a. Detection of antibodies against Chlamydophila abortus in Costa Rican sheep flocks. *Open Veterinary Journal,* 5**,** 122-126.

Villagra-Blanco, R., Dolz, G., Montero-Caballero, D. y Romero-Zúñiga, J. J. 2015b. Detection of antibodies against Chlamydophila abortus in Costa Rican sheep flocks. *Open Vet J,* 5**,** 122-6.

Wang, F. I., Shieh, H. y Liao, Y. K. 2001. Prevalence of Chlamydophila abortus infection in domesticated ruminants in Taiwan. *J Vet Med Sci,* 63**,** 1215-20.

Wheelhouse, N. y Dagleish, M. 2014. Diagnosing the causes of ruminant abortion: Where are we now? *Veterinary journal (London, England: 1997),* 201**,** 243.

Wittenbrink, M. 2002. Chlamydien bei Rindern und Schweinen und ihr zoonotisches Potential. *Deutsche Tierärztliche Wochenschrift,* 109**,** 452-453.

World Health Organization 2003. List of Member States by WHO region and mortality stratum. *World Health Report.* Geneve: WHO.

World Organization for Animal Health 2018. Enzootic Abortion of Ewes (Ovine Chlamydiosis) (infection with Chlamydia abortus). *OIE Terrestrial Manual.*

World Organization for Animal Health 2019. Infection with Chlamydia abortus (Enzootic Abortion of Ewes, Ovine Chlamydiosis). *Terrestrial Animal Health Code.*

Yin, L., Schautteet, K., Kalmar, I. D., Bertels, G., Van Driessche, E., Czaplicki, G., Borel, N., Longbottom, D., Frétin, D., Dispas, M.*, et al.* 2014. Prevalence of Chlamydia abortus in Belgian ruminants. *Vlaams Diergeneeskundig Tijdschrift,* 83**,** 164-170.

Zhou, J., Li, Z., Lou, Z. y Fei, Y. 2018. Prevalence, Diagnosis, and Vaccination Situation of Animal Chlamydiosis in China. *Frontiers in Veterinary Science,* 5**,** 88.