



Frecuencia y factores de riesgo asociados a la presencia de *Chlamydia abortus*, en rebaños ovinos en México



Erika G. Palomares Reséndiz ^a

Pedro Mejía Sánchez ^a

Francisco Aguilar Romero ^a

Lino de la Cruz Colín ^b

Héctor Jiménez Severiano ^c

José Clemente Leyva Corona ^d

Marcela I. Morales Pablos ^d

Efrén Díaz Aparicio ^{a*}

^a Instituto Nacional de Investigaciones Forestales Agrícolas y Pecuarias (INIFAP). CENID Salud Animal e Inocuidad. Carretera México –Toluca, colonia Palo Alto, 05110. Ciudad de México. México.

^b INIFAP. CIRCE. Pachuca. Hidalgo. México.

^c INIFAP. CENID Fisiología. Ajuchitlán, Querétaro. México.

^d Instituto Tecnológico de Sonora. Ciudad Obregón, Sonora. México.

*Autor de correspondencia: efredia@yahoo.com

Resumen:

El objetivo fue evaluar la frecuencia serológica individual y de rebaño, así como detectar los factores de riesgo de *C. abortus*, en siete estados donde se realiza la producción ovina en México. Se efectuó un estudio multifactorial, transversal y estratificado, con análisis de 5,321 muestras serológicas en 323 rebaños de 61 municipios. Se realizó ELISA con un kit comercial. Los factores de riesgo asociados con la enfermedad se determinaron mediante cuestionarios y análisis estadísticos con una prueba de Ji cuadrada con un intervalo de confianza del 95%. Del total de 5, 231 muestras de suero que fueron colectadas, 581 (10.92 %) dieron positivas a la prueba de ELISA. Los resultados por estado de sueros positivos fueron: Tlaxcala 13.08% (73/558); Sonora 12.45 % (102/819); Chihuahua 11.56 % (107/925); Hidalgo 11.34 % (97/855); Chiapas 10.15 % (60/591); Querétaro 9.69 % (79/815); Estado de México 7.09 % (63/758). La frecuencia de hatos seropositivos, fue de 43.34 % (140/323). Los resultados al ser agrupados por estado fueron los siguientes: Hidalgo 67.39 % (31/46), Querétaro 67.18 % (43/64); Sonora 40.92 % (19/47); Tlaxcala 33.33 % (12/36); Chiapas 31.57 % (12/38); Estado de México 25.45 % (14/55) y Chihuahua 24.32 % (9/37). Los principales factores de riesgo que favorecen la presencia del aborto enzoótico de las ovejas, fueron que estuviesen gestantes, que tuviesen una edad entre los 37 a los 48 meses y que el sistema de producción fuese intensivo. Estos estudios serológicos identificaron la presencia del aborto enzoótico de las ovejas en México, así como algunos de los factores de riesgo que inciden para favorecer su presencia.

Palabras clave: *Chlamydia abortus*, Ovejas, Seroprevalencia, Factores de riesgo, México.

Recibido: 20/02/2019

Aceptado: 02/10/2019

Introducción

El aborto enzoótico de las ovejas (AEO) o la clamidiasis ovina, es una enfermedad infecciosa causada por *Chlamydia abortus*, una bacteria intercelular obligada Gram negativa. La bacteria tiene afinidad por las membranas mucosas, por lo tanto, después de la invasión placentaria, tiende a causar ulceración del epitelio endometrial, aborto o nacimiento de crías débiles⁽¹⁻²⁾.

Los casos de aborto son críticos para la ganadería, ya que contribuyen a que se presenten mermas económicas debidas a la falta de crías y de pérdida de la producción lechera. *C. abortus* tiene un potencial zoonótico, causa conjuntivitis, neumonía y aborto en humanos^(3,4).

Los abortos causados por la AEO, se presentan en el último tercio de la gestación, sin signos clínicos antes del momento del aborto y prevalecen en áreas donde los rebaños se mantienen en espacios sobrepoblados durante las temporadas de parto⁽³⁾. Los signos clínicos presentes en los rebaños ovinos, incluyen epididimitis, neumonía, artritis y conjuntivitis⁽⁵⁻⁸⁾.

En México, se han realizado diversos estudios sobre pequeños rumiantes; en 1996, se informó el aislamiento de *Chlamydia psittaci* en infecciones subclínicas entéricas en rebaños de ovejas de cinco estados del país⁽⁹⁾, y en 1997 se informó el primer aislamiento del aborto caprino⁽¹⁰⁾. En 2001, se informó de zoonosis en México, ya que los humanos se infectaron con *Chlamydia* spp a partir de ganado caprino⁽¹¹⁾.

Sin embargo, el hecho de que la enfermedad se considerara exótica en México hasta mayo de 2016 fue un factor para que se diseminara la enfermedad en nuestro País, debido a que se carecía de métodos de diagnóstico⁽¹²⁾. En México, no hay estudios epidemiológicos extensos sobre poblaciones ovinas; sin embargo, se estima que el AEO está muy extendida en esta especie doméstica y, como tal, está causando daños a la cría de ovejas a nivel nacional. Además, es probable que la enfermedad continúe siendo introducida en muchos de los estados de la República Mexicana, debido al intercambio de animales entre productores y al contacto con otras especies infectadas, como bovinos o caprinos^(13,14). El objetivo de este estudio fue evaluar la frecuencia serológica y los factores de riesgo de *C. abortus*, en las principales zonas de producción ovina de México.

Material y métodos

Se obtuvieron un total de 5,321 muestras de sueros de ovejas hembras mayores de seis meses de edad de 323 rebaños, en 61 municipios de siete estados de México: Hidalgo, Tlaxcala, Querétaro, Chihuahua, Sonora, Chiapas y México. Estos estados se eligieron tomando en cuenta la productividad y la oportunidad de poder tomar muestras en los diferentes rebaños. La mayoría de los animales fueron de origen mexicano; las ovejas importadas procedían de Australia, Nueva Zelanda y los Estados Unidos de América.

El estudio fue multifactorial, transversal y estratificado; los rebaños se seleccionaron por las facilidades otorgadas por los productores. El número de animales muestreados se calculó

utilizando el software Win Epiinfo Ver 2.0, usando el modo de estimación de porcentajes, para una frecuencia estimada de 5% de ovejas infectadas, un error de 5% y 95% de confianza. Para obtener la información sobre los factores de riesgo y relacionarlos con la presencia de *C. abortus*, se pidió a los propietarios de los rebaños que respondieran a dos cuestionarios. El primero se centró en los aspectos generales y en la gestión del rebaño, considerando aspectos de genética, nutrición, salud animal, reproducción y de las instalaciones. En el segundo cuestionario se recabó información de las ovejas muestreadas: edad, número de partos, e historial tanto clínico como de producción.

El diagnóstico serológico se determinó mediante un ELISA indirecto (Pourquier® ELISA Chlamydiosis, IDDEX Maine, EE. UU.), que utiliza un antígeno de proteína recombinante de 80-90 kDa, específico para *C. abortus*, que no tiene reacción cruzada con *Chlamydia pecorum*⁽¹⁵⁾.

Los valores de frecuencia de *C. abortus* para ovejas individuales y para rebaños infectados se evaluaron y compararon con una prueba de Ji cuadrada, considerando la frecuencia y el intervalo de confianza de las ovejas y sus corderos, así como los parámetros de prueba en comparaciones, utilizando el software Win Epiinfo Ver 2.0. Los valores se consideraron significativos con un valor de $P < 0.05$, con un intervalo de confianza del 95%⁽¹⁶⁾.

Los factores de riesgo asociados a la infección se evaluaron con los cuestionarios, previamente validados. Los datos obtenidos se analizaron para determinar los factores de riesgo presentes en los rebaños, que podrían estar asociados a la presencia y al comportamiento epidemiológico de *C. abortus* en la población ovina (Cuadro 1).

Cuadro 1: Frecuencia y factores de riesgo correlacionados con la presencia de ovejas seropositivas a *C. abortus*

Factor	Categoría	Animales seropositivos	Frecuencia (%)	FR	IC 95%
Estado productivo	Oveja gestante	132/538	24.53	3.47 *	1.22-9.59
	Oveja en lactación	235/1901	12.36	1.39*	0.59-3.17
	Oveja dando lactación a su cría	22/170	12.94	1.41*	0.54-3.36
	Oveja finalizando su lactación	106/1367	7.75	0.69	0.19-1.87
	Ovejas no gestantes y que no estaban en lactación	65/961	6.76	0.61	0.10-2.13
	Ovejas púberes, en etapa no reproductiva	21/384	5.46	0.49	0.06-3.92
Edad	6 a 11 meses	46/949	4.84	0.97	0.20-3.30
	12 a 24 meses	78/1264	6.17	1.92*	0.50-4.10
	25 a 36 meses	101/1017	9.93	2.10*	1.15-4.07
	37 a 48 meses	356/2091	17.02	4.12*	2.62-6.34
Procedencia	Nacido en el rebaño	460/3897	11.80	1.9	0.70-4.90
	Comprado	116/1331	8.71	0.7	0.30-1.60
	No hay datos	0/37	0.00	0	0
Tipo de rebaño	Intensivo	95/525	18.09	2.23*	0.70-6.40
	Semi-intensivo	370/3155	11.72	1.46*	0.50-3.20
	Extensivo	116/1536	7.55	0.41	0.20-1.10
Total		581/5321	10.91		

FR= factor de riesgo; IC= índice de concordancia.

* Diferencia estadística ($P < 0.05$) asociada al factor de riesgo.

Resultados

Del total de 5,231 muestras de suero que fueron colectadas, 581 (10.92 %) dieron positivas a la prueba serológica para detectar anticuerpos contra *C. abortus*. La frecuencia de animales seropositivos al agruparla por Estados fue: en Sonora 12.45 % (102/819); en Chiapas 10.15 % (60/591); en Querétaro 67.18 % (43/64); en Chihuahua 24.32 % (9/37); en Tlaxcala

33.33 % (12/36); en Hidalgo 11.34 % (97/855); y en el Estado de México 7.09 % (63/758). Del total de 323 rebaños muestreados resultaron con al menos un ovino positivo a la prueba serológica para detectar anticuerpos contra *C. abortus* el 43.34 % (140/323).

Los valores de frecuencia por rebaño fueron: en Sonora 40.42 % (19/47); en Chiapas 31.57 % (12/38); en Querétaro 67.18 % (43/64); en Chihuahua 24.32 % (9/37); en Tlaxcala 33.33 % (12/36); en Hidalgo 67.39 % (31/46); y en el Estado de México 25.45 % (14/55).

Con respecto al estado productivo de los animales muestreados, 24.53 % de los animales seropositivos estaban gestantes; 12.36 % eran ovejas seropositivas que estaban en lactación; 12.94 % eran ovejas dando lactación a su cría; 7.75 % eran ovejas que estaban finalizando su lactación; 6.76 % eran ovejas no gestantes y que no estaban en lactación; y el 5.46 % fueron ovejas púberes en etapa no reproductiva. El estado de la producción se evaluó como posible factor de riesgo y el estudio encontró que las ovejas gestantes tenían 3.5 veces más probabilidades de ser seropositivas para *C. abortus* (Cuadro 1).

Respecto a la seropositividad en relación con la edad, el 17.02 % de los animales tenía entre 37 a 48 meses, en contraste en el grupo de ovinos entre los 6 a 11 meses, las frecuencias de los animales seropositivos de estos jóvenes fueron muy bajas, ya que solo 46 de los 949 animales muestreados resultaron positivos. De acuerdo con la razón de probabilidades (RP) obtenida, los animales entre las edades de 37 y 48 meses tenían 4.12 veces más probabilidades de infectarse que en cualquier otra edad (Cuadro 1).

Con respecto a la procedencia de los animales, el 11.8 % fueron animales que nacieron en el mismo rebaño y el 8.71 % fueron adquiridos de otros lugares; la procedencia no se estableció como un factor de riesgo después de analizar esta variable (Cuadro 1).

Con respecto al manejo de los rebaños, 18.09 % (RP= 2.23; IC95%: 0.70-6.40) de los rebaños estudiados fueron de unidades de producción intensiva, 11.72 % (RM 1.46; IC95% 0.50-3.20) fueron semi-intensivos, y el 7.55 % restante (RP= 0.41; IC95% 0.20-1.10) provino de rebaños de tipo extensivo (Cuadro 1).

Discusión

El AEO era considerado una enfermedad exótica en México, hasta mayo de 2016, que paso a ser una enfermedad de notificación obligatoria; este estudio establece una frecuencia del 10.92 % y confirma la presencia y diseminación de la enfermedad en las principales áreas de

producción ovina del país. El Estado de México es el único estado de la República en el que se han realizado estudios previos de prevalencia de AEO^(9,12). Los datos del Estado de México en el presente estudio muestran que el 7.09 % (n= 758) de los animales muestreados fueron positivos, mientras que los estudios previos^(9,12) se encontraron prevalencias del 40.64 % y 21.3 %, respectivamente. Es importante mencionar que estos autores trabajaron en rebaños que habían presentado problemas reproductivos, mientras que, en el presente estudio, los animales fueron muestreados sin considerar su estado reproductivo. Además, la alta prevalencia encontrada por Escalante en 1996, podría deberse al hecho de que utilizaron un antígeno soluble para su ELISA, que difiere del implementado en este estudio que tenía una sensibilidad del 95.7 % y una especificidad del 100 % que es específico para *C. abortus*, evitando la posibilidad de reacción cruzada con *C. pecorum* o algunas bacterias Gram negativas como *Acinetobacter* spp.

La mayor frecuencia de AEO (13.08 %) se encontró en el estado de Tlaxcala, en rebaños en producción intensiva y semi-intensiva. Estos números de frecuencia coinciden con los descritos por Aitken⁽⁴⁾, quienes informaron que, en los sistemas con explotación intensiva, la prevalencia de AEO y la presencia de trastornos reproductivos son mayores que los que se encuentran en los sistemas de producción extensiva.

El factor de riesgo más importante que favorece que se disemine la enfermedad en los rebaños es la introducción de animales que no habían sido certificados previamente como negativos para las pruebas de diagnóstico⁽¹⁷⁾, hecho que se determina en el elevado porcentaje de rebaños positivos en los principales estados donde se efectúa la producción de ovejas en México. Esto puede ser debido a que al ser considerada una enfermedad exótica no había posibilidad de realizar el diagnóstico por no existir pruebas comerciales, por lo que no era posible prevenir la propagación de la clamidia.

Los países de origen de las ovejas importadas son principalmente Australia y Nueva Zelanda, que se mencionan como libres de *C. abortus*⁽⁴⁾. Sin embargo, los animales importados no se prueban antes de su llegada y mantienen contacto con las ovejas nativas. Esto implica que la introducción de animales de países endémicos como los Estados Unidos de América podría ser uno de los factores de difusión de esta enfermedad, ya que este control no se lleva a cabo. Esto se apoya en el hecho de que algunas ovejas importadas tuvieron abortos en la última etapa de la gestación durante los períodos de cuarentena y poco después de ser llevadas a los rebaños.

Los países que se dedican principalmente a la cría de ovejas muestran la mayor cantidad de problemas relacionados con los abortos inducidos por el AEO, el contacto de las ovejas infectadas con material contaminado constituye una de las formas en que la enfermedad puede transmitirse a otras especies animales^(1,18). En un estudio realizado en Irán⁽¹⁹⁾

determinaron los factores de riesgo en pequeños rumiantes que presentaron abortos, de 300 fetos abortados (183 cabras y 117 borregos), 11 % fueron positivas a *C. abortus* mediante PCR determinando que, un factor de riesgo importante es el manejo de los animales, pues si están en contacto entre ellos se facilita la transmisión de la enfermedad.

Se determinó que el tipo de sistema de producción es un factor de riesgo asociado; sin embargo, la mayor frecuencia de seropositividad (18.9 %) se encontró en rebaños en sistemas de producción intensivos, lo que, debido a la naturaleza de sus características de manejo, facilita la propagación del AEO y de otras enfermedades⁽²⁰⁾. Además, este estudio corrobora que la cría de ovejas en la producción extensiva es un factor protector contra el AEO (OR = 0.41; IC95%: 0.2-1.1), lo que confirma que la propagación de la enfermedad es acelerada por el hacinamiento de los animales, porque el contacto entre ovejas sanas e infectadas se incrementa en rebaños intensivos y semi-intensivos^(17,19,21).

Al establecer una relación entre la procedencia de las ovejas y la frecuencia de ovejas seropositivas a *C. abortus*, se determinó que era un factor de riesgo asociado. Esto nos permite inferir que es más probable que los animales procedentes de unidades de producción de otros estados o incluso de otros países, a su llegada a los centros donde son acopiados antes de distribuirlos a los rebaños, la infección puede propagarse más fácilmente al confinar a los animales en instalaciones difíciles de limpiar y desinfectar⁽¹⁸⁾.

Diferentes estudios coinciden con que uno de los principales riesgos para la transmisión del AEO, sea el lugar de procedencia de los animales, esto nos permite inferir que los animales procedentes de explotaciones de otros estados o incluso de otros países que son confinados en centros de acopio antes de que sean distribuidos a su destino final, en estos lugares debido al hacinamiento y a la carencia de medios adecuados para limpiar y desinfectar las instalaciones, la infección puede propagarse más fácilmente⁽¹⁷⁾. Respecto de la procedencia u origen de los animales; los únicos requisitos que los productores consideran antes de ingresar una nueva oveja en su rebaño es el fenotipo y que los animales se observen clínicamente sanos, por lo que se descuida el diagnóstico de la enfermedad⁽¹⁾. El presente estudio indica que la bacteria se ha diseminado en todo el país, pero a diferentes tasas y proporciones en los diferentes estados. Sin embargo, al determinar si existía relación entre la procedencia de las ovejas y la frecuencia de ovejas seropositivas a *C. abortus*, no se estableció que era un factor de riesgo.

Este estudio identificó que los animales gestantes son 3.4 veces más probables de infectarse. Esto podría deberse al hecho de que, durante la gestación, las ovejas están inmunodeprimidas y, por lo tanto, aumentan sus demandas nutricionales, lo que se agrava si su alimentación es inadecuada. Esto es una consecuencia del estrés creado por una fuente deficiente de

alimentos, lo que genera cortisol endógeno que contribuye a la inmunosupresión ya que es una sustancia con efecto tóxico para los linfocitos⁽¹⁸⁾.

La ausencia de estrategias para separar a las hembras infectadas que están cercanas al parto y cuando están recién paridas, contribuye enormemente a la infección porque las ovejas infectadas, eliminan elevadas cantidades de bacterias previamente, durante y después del parto o el aborto^(1,22,23).

Se observó que a medida que aumenta la edad, las probabilidades de exposición a la enfermedad aumentan proporcionalmente, por lo tanto, se acrecienta el número de ovejas seropositivas. También debe considerarse que las hembras que han estado en el rebaño durante largos períodos de tiempo, han permanecido allí porque son buenas madres, pero, con la edad, resienten las consecuencias causadas por el número de partos que llevan auestas y, por lo tanto, su susceptibilidad a la enfermedad aumenta^(24,25). Hay otros factores que podrían estar involucrados en la propagación de la enfermedad, especialmente si no se toman medidas adecuadas de bioseguridad. Por ejemplo, los sistemas de explotación intensivos favorecen la contaminación de los corrales, ya que hay una gran acumulación de heces que no se pueden reciclar que, por lo tanto, causan contaminación atmosférica, del suelo y del agua. Esto se asocia con la falta de equipo y las medidas de higiene que se observaron en los rebaños de ovejas examinados en este estudio, y porque el agua, está contaminada con heces y otros materiales orgánicos^(18,26).

Las frecuencias elevadas, 43.34 % (140/323) encontradas a nivel de rebaño fueron constantes en las principales zonas de producción ovina mexicana, evidencias de que el AEO está ampliamente diseminada en todo el país y con ella, las consecuencias que han sido reportadas por diferentes autores^(9-11,15) señalando al AEO como una de las principales causas del aborto, que tiene un alto impacto económico en los países europeos, norteamericanos y africanos⁽²⁷⁾, y por la falta de las herramientas diagnósticas necesarias para detectar la enfermedad, aún no se han determinado las consecuencias de su introducción a nuestro país que podría sufrir consecuencias similares a las que presentan los países señalados anteriormente.

La diseminación del AEO no solo concierne a la producción de ovejas; estudios previos han reportado mediante el diagnóstico realizado por ELISA en hatos bovinos lecheros con antecedentes de aborto de ocho estados de la República Mexicana, una frecuencia de animales positivos a *C. abortus* de 14 % (145/1,032)⁽¹⁴⁾, en bovinos la presencia de animales positivos a AEO se encuentran relacionados con la presencia de abortos y otros problemas reproductivos⁽²⁸⁾.

Otro estudio encontró una seropositividad de *C. abortus* del 9.60 % en seis rebaños caprinos en el estado de Guanajuato y se obtuvo el aislamiento de la bacteria en el 26.98 % de las

cabras muestreadas⁽¹³⁾. En un trabajo realizado en cabras que habían presentado abortos en los estados de Querétaro, Veracruz, Puebla, Jalisco y de la región de la Comarca Lagunera, se aisló *C. abortus* en 23.1 % de las muestras⁽²⁹⁾.

Conclusiones e implicaciones

Se concluye que la frecuencia de serología positiva encontrada en los rebaños en las principales zonas productoras de ovejas de México, así como la detección de los factores de riesgo asociados con la presencia y con la propagación de la enfermedad, evidencian la diseminación del aborto enzoótico de las ovejas en México.

Literatura citada:

1. Longbottom D, Coulter LJ. Animal chlamydioses and zoonotic implications. *J Comp Pathol* 2003;128(4):217–244.
2. Rohde G, Straube E, Essig A, Reinhold P, Sachse K. Chlamydiale Zoonosen, *Dtsch Arztebl Int* 2010;107(10):174–1780.
3. Rodolakis A, Salinas J, Papp J. Recent advances on ovine chlamydial abortion, *Vet Res* 1998;29(3-4):275–288.
4. Aitken DI. Chlamydial abortion, *Diseases of sheep*. 3rd ed. Madrid, España: Blackwell Science; 2000.
5. Rekiki A, Sidi-Boumedine K, Souriau A, Jemli J, Hammami S, Rodolakis A. Isolation and characterization of local strains of *Chlamydophila abortus* (*Chlamydia psittaci* serotype 1) from Tunisia. *Vet Res* 2002;33(2):215–222.
6. Gerber A, Thoma R, Vretou E, Psarrou E, Kaiser C, Doherr MG, *et al.* Ovine enzootic abortion (OEA): A comparison of antibody responses in vaccinated and naturally-infected Swiss sheep over a two-year period. *BMC Vet Res* 2007;28(3):24.
7. Zhong G. Killing me softly: chlamydial use of proteolysis for evading host defenses. *Trends Microbiol* 2009;17(10):467-474.
8. Polkinghorne A, Borel N, Becker A, Lu ZH, Zimmermann DR, Brugnera E, Pospischil A, Vaughan L. Molecular evidence for chlamydial infections in the eyes of sheep. *Vet Microbiol* 2009;135(1-2):142–146.

9. Escalante OC, Rivera FA, Trigo TF, Romero MJ. Detection of *Chlamydia psittaci* in enteric subclinical infections in adult sheep, through cell culture isolation. Rev Latinoam Microbiol 1996;38(1):17-23.
10. Escalante OC, Díaz AE, Segundo ZC, Suárez GF. Isolation of *Chlamydia psittaci* involved in abortion of goats in Mexico: first report. Rev Latinoam Microbiol 1997; 39(3-4):117-121.
11. Escalante OC, Lazcano C, Soberón A. *Chlamydophila* spp como agente zoonótico en México [resumen]. Reunión Nacional de Investigación Pecuaria. Tuxtla Gutiérrez, Chiapas. 2001.
12. Jiménez EJM, Escobedo GMR, Arteaga TG, López HM, De Haro CM, Montes De Oca JR, Guerra IFM. Detection of *Chlamydophila abortus* in sheep (*Ovis aries*) in Mexico. Am J Anim Vet Sci 2008;3(4):91-95.
13. Mora DJC, Díaz AE, Herrera LE, Suárez GF, Escalante OC, Jaimes VS, Arellano-Reynoso B. Isolation of *Chlamydia abortus* in dairy goat herds and its relation to abortion in Guanajuato, Mexico. Vet Mex OA 2015;2(1).
14. Limón GM. Prevalencia de Leucosis y Clamidiosis en bovinos lecheros de Aguascalientes y Guanajuato [tesis licenciatura]. Cuautitlán, México: FES Cuautitlán, Universidad Nacional Autónoma de México; 2012.
15. Marques PX, Souda P, O'Donovan J, Gutierrez J, Gutierrez EJ, Worrall S, *et al.* Identification of immunologically relevant proteins of *Chlamydophila abortus* using sera from experimentally infected pregnant ewes. Clin Vaccine Immunol 2010;17(8):1274-1281.
16. Thrusfield M, Ortega C, de Blas I, Noordhuizen JP, Frankena K. Win Episcopo 2.0: Improved epidemiological software for veterinary medicine. Vet Rec 2001;148:67-572.
17. Barkallah M, Jribi H, Ben Slima A, Gharbi Y, Mallek Z, Gautier M, *et al.* Molecular prevalence of *Chlamydia* and *Chlamydia*-like bacteria in Tunisian domestic ruminant farms and their influencing risk factors. Transbound Emerg Dis 2018;65(2):329-338.
18. Lenzko H, Moog U, Henning K, Lederbach R, Diller R, Menge C, Sachse K, Sprague LD. High frequency of chlamydial co-infections in clinically healthy sheep flocks. BMC Vet Res 2011;16(7):29.
19. Heidari S, Derakhshandeh A, Firouzi R, Ansari-Lari M, Masoudian M, Eraghi V. Molecular detection of *Chlamydophila abortus*, *Coxiella burnetii*, and *Mycoplasma*

- agalactiae* in small ruminants' aborted fetuses in southern Iran. Trop Anim Health Prod 2018;50(4):779-785.
20. Thrusfield M. Vet Epi 2005. Oxford, England. Blackwell Science.
 21. Rodolakis A, Mohamad KY. Zoonotic potential of *Chlamydophila*. Vet Microbiol 2010;140(3-4):382-391.
 22. Maley SW, Livingstone M, Rodger SM, Longbottom D, Buxton D. Identification of *Chlamydophila abortus* and the development of lesions in placental tissues of experimentally infected sheep. Vet Microbiol 2009;16(135):122-127.
 23. Longbottom DG, Entrican N, Wheelhouse N, Brough H, Milne C. Evaluation of the impact and control of enzootic abortion of ewes. Vet J 2013;195(2):257-259.
 24. Zhou DH, Zhao FR, Xia HY, Xu MJ, Huang SY, Song HQ, Zhu XQ. Seroprevalence of chlamydial infection in dairy cattle in Guangzhou, southern China. Ir Vet J 2013;66(1):2.
 25. Qin SY, Yin MY, Cong W, Zhou DH, Zhang XX, Zhao Q, Zhu XQ, Zhou JZ, Qian AD. Seroprevalence and risk factors of *Chlamydia abortus* infection in Tibetan sheep in Gansu province, northwest China. Sci World J 2014:193464.
 26. Bagdonas J, Petkevicius S, Russo P, Pepin M, Salomskas A. Prevalence and epidemiological features of ovine enzootic abortion in Lithuania. Pol J Vet Sci 2007; 10(4):239-244.
 27. Vega S, Roche M, García A, Gómez T. Estudio de la etiología de los abortos en los pequeños rumiantes en la Comunidad Valenciana. XXIX Jornadas Científicas de la SEOC. 2003:262-264.
 28. Sachse K, Vretou E, Livingstone M, Borel N, Pospischil A, Longbottom D. Recent developments in the laboratory diagnosis of chlamydial infections. Vet Microbiol 2009;135(1-2):2-21.
 29. Sánchez RL. Presencia de *Chlamydia abortus* en cabras de México [tesis Maestría]. Cuautitlán, México: FES Cuautitlán, Universidad Nacional Autónoma de México. 2014.