



Universidad  
Nacional  
de Loja

## Universidad Nacional de Loja

Facultad Agropecuaria y de Recursos Naturales Renovables

Carrera de Medicina Veterinaria

### Determinación de la frecuencia de aborto enzoótico en cabras del cantón Zapotillo de la provincia de Loja

Trabajo de Integración Curricular  
previo a la obtención del título de  
Médico Veterinario

**AUTOR:**

Bryan Patricio Ramos Chalaco

**DIRECTOR:**

MVZ. Jhuliana Katherine Luna Herrera, Mg. Sc.

Loja – Ecuador

2023

## Certificación

Loja, 03 de octubre de 2023

MVZ. Jhuliana Katherine Luna Herrera, Mg Sc.

**DIRECTORA DEL TRABAJO DE INTEGRACIÓN CURRICULAR**

### CERTIFICO:

Que he revisado y orientado todo el proceso de elaboración del Trabajo de Integración Curricular denominado: **Determinación de la frecuencia de aborto enzoótico en cabras del cantón Zapotillo de la provincia de Loja**, de autoría del estudiante **Bryan Patricio Ramos Chalaco**, con **cédula de identidad Nro.1105248205** previo a la obtención del título de **Médico Veterinario**. Una vez que el trabajo cumple con todos los requisitos exigidos por la Universidad Nacional de Loja, para el efecto, autorizo la presentación del mismo para su respectiva sustentación y defensa.

MVZ. Jhuliana Katherine Luna Herrera, Mg Sc.

**DIRECTORA DEL TRABAJO DE INTEGRACIÓN CURRICULAR**

## **Autoría**

Yo, **Bryan Patricio Ramos Chalaco**, declaro ser autor del presente Trabajo de Integración Curricular y eximo expresamente a la Universidad Nacional de Loja y a sus representantes jurídicos, de posibles reclamos y acciones legales, por el contenido del mismo. Adicionalmente acepto y autorizo a la Universidad Nacional de Loja la publicación de mi Trabajo de Integración Curricular, en el Repositorio Digital Institucional – Biblioteca Virtual.

**Firma:**



**Autor:** Bryan Patricio Ramos Chalaco

**Cédula de identidad:** 1105248205

**Fecha:** 03 de octubre de 2023

**Correo electrónico:** bryan.ramos@unl.edu.ec

**Teléfono:** 0998848991

**Carta de autorización por parte del autor, para consulta, reproducción parcial o total y/o publicación electrónica del texto completo del Trabajo de Integración Curricular.**

Yo, **Bryan Patricio Ramos Chalaco**, declaro ser autor del Trabajo de Integración Curricular denominado: **Determinación de la frecuencia de aborto enzoótico en cabras del cantón Zapotillo de la provincia de Loja**, como requisito para optar por el título de **Médico Veterinario**, autorizo al sistema Bibliotecario de la Universidad Nacional de Loja para que, con fines académicos, muestre la producción intelectual de la Universidad, a través de la visibilidad de su contenido en el Repositorio Institucional.

Los usuarios pueden consultar el contenido de este trabajo en el Repositorio Institucional, en las redes de información del país y del exterior con las cuales tenga convenio la Universidad.

La Universidad Nacional de Loja, no se responsabiliza por el plagio o copia del Trabajo de Integración Curricular que realice un tercero.

Para constancia de esta autorización, en la ciudad de Loja, a los dieciocho días del mes de septiembre de dos mil veintitrés.

**Firma:**



**Autor:** Bryan Patricio Ramos Chalaco

**Cédula:** 1105248205

**Dirección:** Loja, Barrio San Pedro

**Correo electrónico:** bryan.ramos@unl.edu.ec

**Teléfono:** 0998848991

**DATOS COMPLEMENTARIOS:**

**Directora del Trabajo de Integración Curricular:** MVZ. Jhuliana Katherine Luna Herrera, Mg Sc.

## **Dedicatoria**

Dedico este trabajo a mis queridos padres, Patricio y Yuli, quienes siempre me hicieron sentir su apoyo en cada etapa de mi formación profesional, a mi hermana Emily y a mis hermanos Antony y Julián por ser mi motivo de superación cada día. Sin duda este logro no hubiese sido posible sin la bendición de mis abuelitos Hugo, Graciela y Corina. Gracias por su impulso y confianza.

***Bryan Patricio Ramos Chalaco***

## **Agradecimiento**

Al finalizar mi Trabajo de Investigación quiero dejar constancia de mi gratitud a mi querida Universidad Nacional de Loja, y la carrera de Medicina Veterinaria por permitirme formarme profesionalmente, agradezco a mis docentes por los conocimientos compartidos en cada clase, especialmente a mi tutora de tesis Mvz. Jhuliana Katherine Luna Herrera, Mg Sc., y al Mvz. Roberto Claudio Bustillos Huilca, Mg Sc., por el apoyo y orientación profesional durante la realización del trabajo de integración curricular.

Agradezco también al personal técnico y directivo del Laboratorio de Diagnóstico Integral Veterinario de la Universidad Nacional de Loja por la orientación y enseñanzas en el procesamiento de las muestras. Del mismo modo a los dirigentes del Grupo de Investigación en Sanidad Animal (GISA) de la carrera de Medicina Veterinaria por la confianza y apoyo logístico en el desarrollo de esta investigación.

Gracias a todos mis familiares que de una u otra forma siempre me ayudaron moral y económicamente en el transcurso de mi carrera, anhelo compensarles todo lo que me han dado.

A mis mejores amigos, por todo lo compartido durante este tiempo, mi gratitud siempre con ustedes.

***Bryan Patricio Ramos Chalaco***

## Índice de contenidos

Portada .....	i
Certificación.....	ii
Autoría.....	iii
Carta de autorización.....	iv
Dedicatoria .....	v
Agradecimiento.....	vi
Índice de contenidos .....	vii
Índice de tablas .....	ix
Índice de figuras .....	x
Índice de anexos.....	xi
1. Título .....	1
2. Resumen.....	2
2.1. Abstract .....	3
3. Introducción .....	4
4. Marco Teórico .....	6
4.1. Etiología.....	6
4.2. Transmisión.....	7
4.3. Patogenia .....	7
4.4. Signos clínicos y lesiones .....	9
4.5. Diagnóstico .....	11
4.6. Diagnóstico diferencial .....	12
4.7. Tratamiento.....	12
4.8. Prevención y control.....	12
4.9. Epidemiología.....	13
5. Material y Métodos .....	16
5.1. Área de estudio.....	16
5.2. Procedimiento .....	16
5.2.1. Enfoque metodológico.....	16
5.2.2. Diseño de la investigación .....	17
5.2.3. Tamaño de la muestra y tipo de muestreo.....	17
5.2.4. Técnicas.....	17
5.2.5. Procesamiento y análisis de la información .....	18
5.2.6. Variables de estudio .....	18
5.2.7. Consideraciones éticas.....	18
6. Resultados.....	20
6.1. Características de los animales y apriscos estudiados.....	20
6.2. Frecuencia de infección por <i>Chlamydia abortus</i> y factores asociados.....	20

<b>7. Discusión .....</b>	<b>22</b>
<b>8. Conclusiones .....</b>	<b>24</b>
<b>9. Recomendaciones .....</b>	<b>25</b>
<b>10. Bibliografía.....</b>	<b>26</b>
<b>11. Anexos.....</b>	<b>35</b>

## Índice de tablas

<b>Tabla 1.</b> Taxonomía de <i>Chlamydia abortus</i> . .....	7
<b>Tabla 2.</b> Caracterización de las variables dependiente e independientes por animal.....	18
<b>Tabla 3.</b> Características de los animales y apriscos estudiados (n=92).....	20
<b>Tabla 4.</b> Frecuencia de infección por <i>Chlamydia abortus</i> y factores asociados por animal. .	21
<b>Tabla 5.</b> Frecuencia de infección por <i>Chlamydia abortus</i> y factores asociados por aprisco.	21
<b>Tabla 6.</b> Materiales, equipos y reactivos técnica ELISA indirecto .....	35

## Índice de figuras

<b>Figura 1.</b> Ciclo de desarrollo clamidial. ....	9
<b>Figura 2.</b> Cotiledones con exudado fibrino-purulento .....	10
<b>Figura 3.</b> Infiltrado inflamatorio en vaso sanguíneo .....	10
<b>Figura 4.</b> Mapa de la parroquia Limones y sus barrios. ....	16

## Índice de anexos

<b>Anexo 1.</b> Técnica de ELISA indirecto <i>Chlamydophila abortus</i> . .....	35
<b>Anexo 2.</b> Placa de ELISA indirecto para <i>Chlamydia abortus</i> , detección de anticuerpos.....	37
<b>Anexo 3.</b> Densidades ópticas obtenidas con el lector de ELISA .....	37
<b>Anexo 4.</b> Hoja de registro en campo.....	38
<b>Anexo 5.</b> Certificado de traducción del resumen.....	38

## **1. Título**

Determinación de la frecuencia de aborto enzoótico en cabras del cantón Zapotillo de la provincia de Loja

## 2. Resumen

El aborto enzoótico es una de las enfermedades reproductivas con mayor distribución a nivel mundial; es producida por la bacteria *Chlamydia abortus*, afectando sobre todo a rumiantes menores en los que causa abortos en el último tercio de la gestación o el nacimiento de crías prematuras y débiles que en su mayoría mueren a los pocos días de vida. Por las implicaciones dentro de la salud pública debido a su potencial zoonótico son necesarias investigaciones acerca de la frecuencia de esta enfermedad en el Ecuador. Los objetivos de esta investigación fueron identificar la presencia de anticuerpos contra *Chlamydia abortus* en muestras de suero de cabras del cantón Zapotillo de la provincia de Loja, así como determinar los factores asociados. Para esto, se tomaron muestras de sangre de 92 caprinos, distribuidos en 19 fincas de la parroquia Limones y se recogió información epidemiológica a partir de una encuesta a los propietarios. Las muestras fueron analizadas mediante ELISA indirecto con el antígeno sintético de la proteína de membrana externa MOMP. La presencia de anticuerpos contra *Chlamydia abortus*, fue del 3,26 % (3/92); y los factores edad, sexo, procedencia y presencia de abortos dentro de los apriscos no estuvieron asociados a la presencia de anticuerpos.

**Palabras clave:** Aborto enzoótico, cabras, ELISA indirecto, Ecuador.

## **2.1. Abstract**

One of the most pervasive reproductive diseases in worldwide is enzootic abortion. It mostly affects tiny ruminants and has been brought on by a bacteria called *Chlamydia abortus*, as a consequence, it frequently causes abortions in the third trimester of pregnancy as well as the birth of premature and frail offspring most of which die within a few days after birth. It is important to conduct research on the incidence of this disease in Ecuador because of its possible zoonotic implications for public health. The objectives of this research were to identify the presence of antibodies against *Chlamydia abortus* in serum samples from goats in Zapotillo canton of Loja province and to determine associated factors. To achieve this, blood samples were collected from 92 goats on 19 farms in the Limones parish, and epidemiological information was gathered through surveys of the owners. The samples were analyzed using an indirect ELISA with synthetic antigen of the outer membrane protein MOMP. The presence of antibodies against *Chlamydia abortus* was found to be 3.26% (3/92), and factors such as age, gender, origin, and the occurrence of abortions within the flocks were not associated with the presence of antibodies.

**Keywords:** Enzootic abortion, goats, indirect ELISA, Ecuador.

### 3. Introducción

La ganadería caprina a nivel latinoamericano atraviesa situaciones complicadas que van disminuyendo el número de individuos de esta especie; esto se debe a diversos factores ambientales, sociales, de manejo, y problemas sanitarios representados sobre todo por enfermedades reproductivas, a las que se les debería prestar mayor importancia por las consecuencias que generan sobre la producción y economía de los productores (Meneses, 2017).

Las enfermedades virales y bacterianas son las principales causas de aborto en caprinos, lo que genera pérdidas económicas para los capricultores (Chacón et al., 2017); algunas de estas enfermedades tienen repercusión en la salud pública al ser zoonosis (Dabanch P., 2003), sin embargo, la falta de información impide conocer la epidemiología y por ende la magnitud de la problemática que podrían generar.

La deficiencia en el manejo, sobre todo en el aspecto sanitario juega un papel fundamental en la transmisión de enfermedades generando un grave impacto en la ganadería caprina, así pues, la ausencia de planes de vacunación contra enfermedades reproductivas prevalentes afecta el rendimiento productivo de esta especie. En este contexto, se debe insistir en la importancia de la investigación de enfermedades emergentes y reemergentes a las que pudieran ser susceptibles las especies productivas del país; y con ello trabajar en la cultura de los productores para el uso de biológicos con el objetivo de prevenir enfermedades (A. Martínez et al., 2020).

La región sur del Ecuador se caracteriza por albergar gran parte de la población caprina, esto gracias a las condiciones medioambientales que permiten el desarrollo de este animal, principalmente por su rusticidad (Pesántez & Sánchez, 2017). Se debe considerar que la producción caprina está relegada a sectores marginales, en donde los estudios epidemiológicos son escasos, mismos que son fundamentales para cimentar las bases y elaborar proyectos de prevención y control de enfermedades.

El agente etiológico del aborto enzoótico se distribuye a nivel mundial, en donde la producción caprina esté presente, principalmente si no se llevan a cabo programas sanitarios y control de los animales (Lenira, 2010), por lo que es importante la ejecución de este estudio en el cantón Zapotillo.

Considerando los problemas sanitarios descritos por los caprinocultores y a la ausencia de información acerca de aborto enzoótico en cabras del cantón Zapotillo de la provincia de Loja se propuso esta investigación a través de los siguientes objetivos específicos:

- Identificar la presencia de anticuerpos contra *Chlamydia abortus* en cabras del cantón Zapotillo.
- Determinar los factores asociados al aborto enzoótico en cabras del cantón Zapotillo.

## 4. Marco Teórico

El aborto enzoótico es una enfermedad que afecta a nivel reproductivo a los caprinos, causando abortos en el último tercio de la gestación o el nacimiento de crías prematuras y débiles que en su mayoría mueren a los pocos días de vida (Van Den Brom et al., 2012). Es catalogada como una patología infecciosa que merma las producciones ovinas y caprinas, generando pérdidas económicas y un problema de salud pública al tener un potencial zoonótico (OIE, 2018).

### 4.1. Etiología

El agente etiológico del aborto enzoótico de los pequeños rumiantes es *Chlamydia abortus*, años atrás era conocida como *Chlamydophila psittaci* serotipo 1. A partir del análisis de los genes 16S y 23S rRNA se dio paso a su designación y cambio de nomenclatura dentro de su taxonomía (Gibson da Silva et al., 2006). Se pudo determinar que *C. psittaci* y *C. abortus* surgen de un ancestro en común, pero tienen marcadas diferencias en cuanto a su patogenicidad, reasociación de ADN-ADN y secuencia genómica principalmente (Linzitto et al., 2016).

Las clamidias son bacterias Gram negativas inmóviles que pertenecen a la familia *Chlamydiaceae* (Tabla 1). Esta familia es la que tiene mayor interés desde el punto de vista de la salud pública, representada por el único género *Chlamydia* y cuentan con 13 especies confirmadas y alrededor de 3 especies por confirmar, todas estas son patógenas para humanos y animales (Staub et al., 2018).

Para su supervivencia en el ambiente este tipo de bacterias han desarrollado a través de su ciclo biológico la capacidad de efectuar dos fases en la que actúan los cuerpos elementales con un diámetro de 0.2 a 0.3  $\mu\text{m}$ , infectando a las células susceptibles y los cuerpos reticulares (CR) que tienen un diámetro de 0.5 a 1.6  $\mu\text{m}$ , cuya función es la multiplicación bacteriana (Garvin et al., 2022).

**Tabla 1.** Taxonomía de *Chlamydia abortus*.

Orden	Familia	Género	Especie
<i>Chlamydiales</i>	<i>Chlamydiaceae</i>	<i>Chlamydia</i>	<i>C. trachomatis</i>
			<i>C. suis</i>
			<i>C. muridarum</i>
			<i>C. pneumoniae</i>
			<i>C. pecorum</i>
			<i>C. psittaci</i>
			<i>C. abortus</i>
			<i>C. caviae</i>
			<i>C. felis</i>
			<i>C. avium</i>
			<i>C. gallinacea</i>

Nota. Adaptado de Rodolakis & Yousef, (2010).

#### **4.2. Transmisión**

Al producirse aborto en un animal infectado, la placenta, fetos abortados, envolturas fetales secreciones uterinas desde dos semanas antes y dos semanas después del parto contienen un gran número de *C. abortus* infecciosos. Con lo cual los animales susceptibles pueden contraer la enfermedad. Es importante mencionar que este microorganismo tiene un potencial zoonótico y se ha demostrado que la bacteria puede estar presente en orina, leche y heces en menor cantidad durante varios días post parto (M. Martínez et al., 2022).

La bacteria puede sobrevivir por varios meses en el ambiente, y los animales adultos por lo general se contaminan en corrales de parto o por pastos en los que se desecharon los residuos de un aborto. También puede darse el contagio por el contacto con cabras que provengan de rebaños en donde la enfermedad este presente. Como enfermedad venérea aún no se ha especificado, aunque se ha aislado *C. abortus* de semen, testículos y glándulas accesorias de machos experimentalmente infectados y dependerá de la carga bacteriana presente (Cheong et al., 2019).

#### **4.3. Patogenia**

Cuando el microorganismo ingresa a las cabras por vía oro-nasal, tiende a alojarse en las tonsilas y epitelio intestinal cursando como una infección subclínica que suele manifestarse cuando el sistema inmunológico se altera, además se disemina a través de la sangre o linfa a órganos de colonización secundaria como hígado, bazo y pulmón,

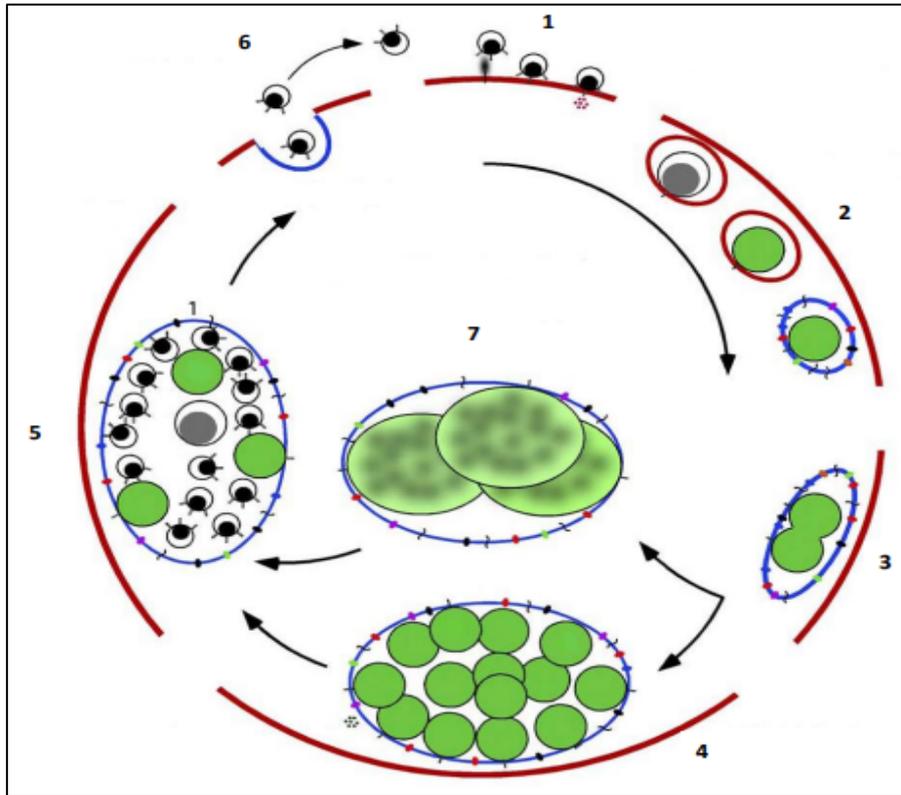
permaneciendo en estado latente. Todo esto es denominado como primera clamidemia (Entrican et al., 2001).

Una vez que inicia la gestación, los cambios fisiológicos y hormonales que esta produce hace que se inicie una segunda clamidemia que pasan de los órganos infectados hacia las células endometriales, infectando toda la pared de la capa interna del útero entre los días 40 y 50 de gestación. A los 90 y 60 días *C. abortus* infecta al feto por medio de los placentomas, que altera el paso de nutrientes al feto, induciendo al aborto por lisis entre el día 125-140 de preñez (Livingstone et al., 2017).

Por otro lado, las hembras pueden parir cabritos prematuros los cuales se caracterizan por ser muy débiles y tener un estadio corto de vida que no supera los 14 días. Aquellos animales que nacen de cabras infectadas y también los que son amamantados por cabras que han presentado aborto o parido crías muertas, pueden estar contagiados, aunque no presenten sintomatología alguna (Caro et al., 2009).

Este tipo de bacterias se caracterizan por ser intracelulares obligadas ya que su crecimiento y división celular se limitan a este medio, volviéndose dependientes a la célula que infectan, por ello necesitan un ciclo de evolución bifásico que alterna entre la forma extracelular infectante, en la que actúa el cuerpo elemental (CE), con la función de infectar a las células susceptibles y la forma intracelular no infectante con el cuerpo reticular (CR) cuya función es la multiplicación bacteriana (Zar, Eba-Marchewka et al., 2021).

El ciclo de desarrollo de *Chlamydia* (Figura 1), empieza cuando el agente infeccioso penetra a la célula eucariota, lo cual ocurre por endocitosis mediada por receptores. El CE es endocitado y con ello se forma un cuerpo de inclusión, dentro de estos los cuerpos elementales se diferencian en cuerpos reticulados, lo cual se da 6-8 horas después de la infección y a las 16 horas se inicia una replicación exponencial por fisión binaria, esto debido al incremento de la actividad metabólica. Concurridas 48 a 72 horas post infección los CR vuelven de forma asincrónica a CE, posteriormente estos se liberan al entorno extracelular mediante lisis de la célula hospedadora (König et al., 2017).



**Figura 1.** Ciclo de desarrollo clamidial.

1. Adhesión y penetración en la célula hospedadora; 2. Diferenciación primaria (CE/CR); 3. División de los CR; 4. Multiplicación de CR y expansión de la inclusión clamidial; 5. Diferenciación secundaria (CR/CE); 6. Liberación de los CE; 7. Desarrollo de cuerpos aberrantes (CA) (persistencia).

Nota. Extraído de AbdelRahman & Belland, (2005).

Cuando existen factores adversos en el medio, el desarrollo de *Chlamydia* puede detenerse de forma irreversible, situaciones de estrés como la privación de aminoácidos, hierro y glucosa, además de la respuesta inmune la cual los expone a citoquinas o incluso antibióticos, hacen que los CR pasen a formas aberrantes, los cuales tienen una replicación continua de ADN sin división celular (Bayramova et al., 2018).

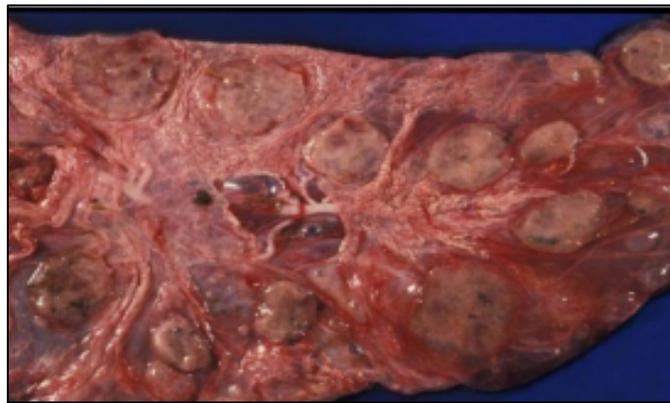
La respuesta inmune es inducida cuando se produce la infección como una respuesta protectora, con esto las hembras infectadas evitan abortos sucesivos, esto no impide que sigan excretando *C. abortus* en ciertas ocasiones durante los partos y los estros posterior a 36 meses de la infección, lo cual favorece al mantenimiento y diseminación de la enfermedad en los rebaños afectados (Livingstone et al., 2009).

#### 4.4. Signos clínicos y lesiones

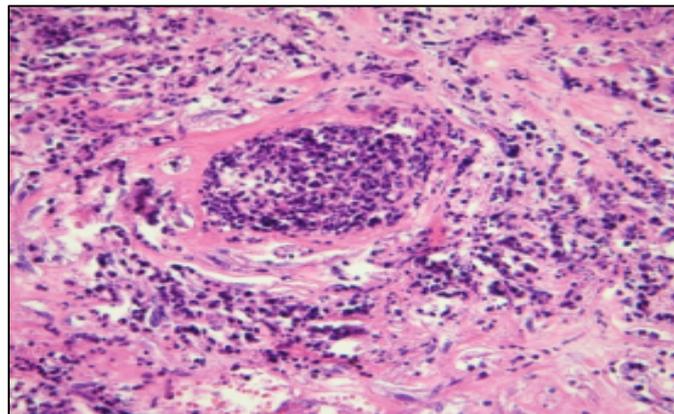
Cuando existe la presencia del agente etiológico dentro de un rebaño los síntomas suelen ser muy pocos o pasan inadvertidos en hembras próximas a parir, por otro lado, las cabras vacías que sean portadoras de la enfermedad cursan de forma subclínica hasta la

subsiguiente preñez (OMSA, 2023). Los síntomas que suelen observarse 48 horas antes del parto son descargas vaginales y cuando se produce aborto este es acompañado por una descarga uterina purulenta de color marrón que dura alrededor de 14 días (Longbottom & Coulter, 2003).

Entre la sintomatología desapercibida encontramos endometritis, vaginitis y retenciones placentarias. Las alteraciones en placenta suelen ser de tipo fibrino-purulenta, con presencia de exudado en la región intercotiledonaria (Figura 2), en el microscopio se puede observar vasculitis con frecuente formación de trombos (Figura 3) (Fernández et al., 2012).



**Figura 2.** Cotiledones con exudado fibrino-purulento  
Nota. Extraído de Fernández et al., (2012).



**Figura 3.** Infiltrado inflamatorio en vaso sanguíneo  
Nota. Extraído de SAG, (2019).

En los cabritos abortados se evidencia edema subcutáneo o difuso y presencia de líquido seroso sanguinolento en cavidad abdominal, cavidad torácica y en la zona del pericardio y en la placenta se denota un proceso infeccioso donde los cotiledones tienen un aspecto arenoso debido a la necrosis (Navarro et al., 2004). Las lesiones macroscópicas no son evidentes, únicamente se destaca la presencia de petequias en la lengua. A nivel

histológico se ven alteraciones en abomaso, hígado, bazo y pulmón los cuales presentan pequeños focos necróticos que con menor frecuencia se presentan en encéfalo y linfonódulos (Nietfeld, 2001). Los alveolos pulmonares presentan exudado fibrinoso y seroso además de neumonitis extensiva (Diab & Uzal, 2010).

Si los cabritos logran nacer sanos o sobrevivir la infección y pasar a una etapa adulta, estos serán portadores de la enfermedad y en el caso de las hembras son más propensas a presentar aborto en la primera gestación. Otros síntomas que pueden experimentar a lo largo de su vida estos animales son neumonías de forma transitoria y leve e inflamación del hígado (Navarro et al., 2004).

El papel de los machos infectados dentro de los apriscos aun no es específico, sin embargo, se conoce que los machos nacidos de madres infectadas producen semen de baja calidad en el que también es excretado el microorganismo, por otro lado, se suele encontrar machos con alteraciones patológicas a nivel de aparato reproductor como epididimitis, vasculitis seminal e infecciones en las glándulas accesorias y testículos; generando esterilidad e infertilidad (Rodolakis & Laroucau, 2015).

#### **4.5. Diagnóstico**

El diagnóstico se puede realizar mediante el aislamiento de anticuerpos para por *C. abortus* a través de muestras de sangre, heces, secreciones vaginales, o tejidos obtenidos a partir de la necropsia. Para esto se utilizan pruebas serológicas directas e indirectas, entre las más conocidas tenemos técnica de fijación del complemento, ensayo inmunoabsorbente de unión de enzimas (ELISA) e inmunofluorescencia y técnicas moleculares como reacción en cadena de polimerasa (PCR) (Aldama et al., 2022).

El ELISA indirecto (ensayo de inmunoadsorción ligado a enzima) es un proceso de unión de dos pasos que implica el uso de un anticuerpo primario y un anticuerpo secundario marcado. En este caso lo que se busca es identificar en muestras de suero, los anticuerpos anti-clamidia generados por los hospedadores tras la infección (Aydin, 2015).

Existen diferentes tipos de ELISA específicos para detectar la presencia de la bacteria ya sea en fragmentos de membrana, fragmento recombinante o proteínas específicas. Es así que un estudio realizado en el que se evaluaba la sensibilidad y especificidad de diferentes pruebas ELISA, se demostró que aquellas basadas en el fragmento recombinante rOMP90-3 alcanzan el 96.8% de sensibilidad y 100% de especificidad, lo que demuestra que el diagnóstico serológico mediante esta técnica es adecuado (Wilson et al., 2009).

Estudios más recientes en el que se comparan tres pruebas comerciales (IDvet, MVD-Enfer y LSI) indican que las pruebas ELISA más sensibles son las que se basan en la

identificación del lipopolisacárido clamidial (LSI) con un 94.74%. En este estudio se evaluaron ovejas gestantes vacunas para medir la producción de anticuerpos entre animales que abortaban y las que terminaban la gestación (O'Neill et al., 2018).

Con respecto al diagnóstico directo, se puede emplea el aislamiento de la bacteria a través de hisopados vaginales, rectales o conjuntivales, siempre y cuando estos sean conservados y transportados en un medio especial para *Chlamydia spp.* El medio indicado en este tipo de muestras es, sacarosa-fosfato-glutamato (SPG), el cual es suplementado con suero bovino y antibióticos para evitar la contaminación y la presencia de falsos positivos (Sachse et al., 2009).

#### **4.6. Diagnóstico diferencial**

El aborto enzoótico presenta sintomatología inespecífica dentro de los rebaños, lo cual es insuficiente para llegar a su diagnóstico, ciertos datos epidemiológicos, además de la observación de placentas con lesiones necróticas-hemorrágicas pueden servir para incluir a esta enfermedad como primera alternativa. Sin embargo, se lo puede confundir con cualquier enfermedad que cause aborto, como toxoplasmosis, brucelosis, coxielosis, salmonelosis, leptospirosis, listeriosis, además de otras especies de clamidias. Es por ello que se debe llevar a cabo pruebas específicas para determinar el agente etiológico en caso de existir abortos dentro de una producción caprina (Berri et al., 2009).

#### **4.7. Tratamiento**

Se ha descrito el uso de antibióticos como tetraciclinas y penicilinas para el tratamiento de las infecciones causadas por clamidiasis, sin embargo, se debe considerar que el uso de estos medicamentos no elimina el agente etiológico ya que los animales siguen eliminando la bacteria y uso únicamente se realiza para controlar las pérdidas en grandes producciones (Essig & Longbottom, 2015).

La antibioterapia puede considerarse como una medida de control, sin embargo, debe utilizarse en casos excepcionales, debido a la aparición de resistencia y la presencia de residuos en los alimentos derivados de estos animales. Por otro lado, el uso de estos medicamentos puede generar persistencia clamidial, contribuyendo a mantener la infección dentro de los apriscos (Bedotti & Rossangio, 2011).

#### **4.8. Prevención y control**

Principalmente se habla del manejo de los apriscos, el propósito es evitar la introducción de animales infectados en hatos libres de enfermedad. En caso de que la bacteria ya se encuentre en la producción, es indispensable aislar rápidamente a los animales

infectados que presenten abortos, así como los residuos que esto genere; además de limpiar y desinfectar el área de partos y limitar lo más posible la diseminación de enfermedad. Esta medida es difícil aplicación debido a la presencia de animales asintomáticos y el transporte de animales por zonas fronterizas donde no se ejecutan controles (Gibson da Silva et al., 2006).

Las vacunas comerciales que existen actualmente son las inactivadas y las vivas atenuadas, las dos contribuyen al control de la enfermedad, pero ninguna confiere protección total, ni elimina por completo la diseminación del agente infeccioso, cabe destacar que los animales vacunados que se exponen a la infección, experimentan un número menor de abortos y reducción de la excreción de clamidias durante un periodo de tres gestaciones posteriores (Klement et al., 2016).

Las vacunas inactivadas fueron las primeras en utilizarse cuando se descubrió la enfermedad, pero el hecho de que estas vacunas no impidan la excreción de clamidias durante el parto supone un gran problema ya que favorece la persistencia de la infección de forma enzoótica en los rebaños inmunizados y genere una selección de aquellas cepas más virulentas (De Jesús Aldama et al., 2022).

La vacuna atenuada es una cepa mutante del microorganismo (cepa 1B), la cual demostró ser muy efectiva en condiciones de campo, reduciendo el número de animales infectados, la severidad de la infección y la excreción de clamidias. A pesar de los buenos resultados, la naturaleza de una vacuna viva siempre implica riesgos ya que las cepas atenuadas pueden revertirse a virulentas y causar la enfermedad, pues algunos estudios han demostrado la relación entre esta vacuna y la aparición de casos de aborto enzoótico (Sargison et al., 2015).

Ambas vacunas presentan un gran inconveniente el cual es que una vez los animales inoculados no se puede diferenciar con pruebas serológicas animales vacunados de infectados. Se ha sugerido el desarrollo de vacunas subcelulares que contengan moléculas clamidiales que intervengan en la respuesta inmune efectiva, sin embargo, aún los ensayos con antígenos recombinantes y péptidos no han conseguido igualar o mejorar la capacidad protectora de la vacuna inactivada o atenuada (Entrican et al., 2012).

#### **4.9. Epidemiología**

El aborto enzoótico se encuentra en casi todas las partes del mundo, a excepción de Nueva Zelanda (García-Seco et al., 2016) y Australia (Jelocnik et al., 2019) países catalogados como libres de aborto enzoótico por la (OIE, 2022).

En Sudamérica, países como Chile, desde el año 2000 tiene evidencia serológica por aislamiento o detección del ácido nucleico del agente, mediante técnicas de biología

molecular en los residuos del aborto o excreción vaginal de las hembras afectadas (Saldías et al., 2014).

Durante el año 2018 en Perú se analizó la prevalencia de anticuerpos contra *Chlamydia abortus* en ganado bovino, para lo cual se analizaron 460 muestras de suero sanguíneo, las cuales se procesaron mediante ELISA indirecto obteniendo resultados 40,34 %  $\pm$  7,06 % con lo cual se recomendó considerar esta bacteria como uno de los posibles agentes causales de aborto en la región de estudio (Loli & Morales, 2020).

Recientes investigaciones en Colombia señalan que existe una alta prevalencia de abortos por *Chlamydia abortus*, un estudio transversal con 514 bovinos de 24 fincas del departamento de Villavicencio mostro que la seroprevalencia a nivel animal fue del 47,1 % y por rebaño del 91,6 %, además de que se evaluó factores predisponentes como el sexo, edad y presencia de canes en las producciones, lo que sugiere que existe una infección natural del patógeno en la zona (Orjuela et al., 2022).

Por otro lado, en Centroamérica en un estudio realizado en México a 126 animales de seis rebaños demostró positividad de 30 animales por PCR (Arellano, 2015). Con diversos estudios que diagnosticaron la alta prevalencia de esta enfermedad se determinó desde el año 2016 que sea decretada como endémica y enfermedad exótica de reporte obligatorio mensual ante las autoridades zoonosanitarias (Castro et al., 2021).

En países asiáticos donde la producción caprina está ampliamente distribuida, la incidencia de clamidiasis fue reportada en un estudio realizado en el año 2021 en la provincia Oriental de Arabia Saudita demostrando una seroprevalencia del 10,4 % de un total de 1101 cabras de 14 rebaños (Fayez et al., 2021). Se ha reportado también en países de África (Benaissa et al., 2020; Djellata et al., 2019; Selim et al., 2021). y países de Europa no son la excepción (Špičić et al., 2015).

Los factores infecciosos son diversos en esta patología, lo cual le permite desarrollarse de forma adecuada, aun así, no existen registros específicos que permitan identificarlos de forma concreta. Sin embargo, es demostrado que en el caso de las cabras son más sensibles ante un brote de aborto enzoótico, abortando en mayor número y teniendo un curso más agresivo, si lo comparamos con los ovinos quienes también son susceptibles a esta patología (Rodolakis & Laroucau, 2015).

Los factores de riesgo que permiten una mayor diseminación de la enfermedad son principalmente la introducción de animales procedentes de otros países, los cuales ingresan sin registros y exámenes previos, además de que aquellos asintomáticos, lo que dificulta aún más el diagnóstico y favorece a la propagación del agente etiológico (Palomares et al., 2020).

El sistema de producción también influye en la propagación de esta enfermedad, en producciones extensivas se ha encontrado una mayor seropositividad a diferencia de sistemas semi-extensivos o extensivos, esto se debe al manejo que se realiza ya que, a mayor cantidad de animales en un mismo aprisco, el contagio por contacto es mayor por desechos de abortos que no se eliminan adecuadamente (Heidari et al., 2018).

El estado reproductivo de las hembras es determinante en el ciclo de desarrollo de esta patología, ya que las cabras gestantes son 3 veces más susceptibles, esto puede estar influido por la alimentación que suele ser deficiente en esta etapa, lo que genera cortisol y por lo tanto inmunosupresión del animal. La edad es un factor determinante puesto que a medida que esta aumenta, el riesgo es mayor, por lo cual se incrementa el número de animales seropositivos (Araújo et al., 2018).

## 5. Material y Métodos

### 5.1. Área de estudio

El presente trabajo de investigación se llevó a cabo en el cantón Zapotillo, parroquia Limones, la cual se ubica a 19 km de la cabecera cantonal, cuenta con una población de 1543 habitantes y se encuentra constituida por los siguientes barrios: El Oro de Pilares, Pilares, Tronco Quemado, Pueblo Nuevo, Pichincha, Chaquiro, El Mango, Hualtacos, Novillos, Cabeza de Toro, Catanas, Totumitos, El Sauce, Sahinos, Tamarindo, Huasimal, Paletillas de Malvas, Añasitos, Jiménez, Corralitos, Limones. Cuenta con un clima cálido seco y una temperatura entre 24 – 30°C, donde se desarrolla aproximadamente el 40 % de la ganadería caprina del cantón Zapotillo (Cisneros, 2015).



Figura 4. Mapa de la parroquia Limones y sus barrios.

Nota. Obtenido del Centro de Investigaciones Territoriales UNL (2023).

### 5.2. Procedimiento

#### 5.2.1. Enfoque metodológico

Se utilizó el método cuantitativo, por cuanto se empleó la recolección y el análisis de varios datos con el fin de responder las interrogantes planteadas y resolver las hipótesis de investigación (Müggenburg & Pérez, 2007).

### **5.2.2. Diseño de la investigación**

Se realizó un estudio observacional transversal descriptivo, con el propósito de estimar la frecuencia de aborto enzoótico mediante serología, así como conocer los factores asociados a la enfermedad.

### **5.2.3. Tamaño de la muestra y tipo de muestreo**

Se obtuvo muestras de sangre de cabras adultas (*Capra aegagrus hircus*), de 19 fincas distribuidas en los barrios de la parroquia Limones, en cada finca se seleccionaron 5 animales de forma aleatoria, dando en total 92 cabras, este tipo de muestreo se realizó por conveniencia debido a la dificultad de acceso a los lugares de muestreo.

### **5.2.4. Técnicas**

- **Toma de muestras de sangre y registro de información en campo**

De cada cabra se extrajo 5 ml de sangre de la vena yugular por medio del sistema de vacío y vacutainer sin anticoagulante. Las muestras se rotularon y conservaron con gel frío a una temperatura de 4 °C para ser transportadas al Laboratorio de Diagnóstico Integral Veterinario de la Universidad Nacional de Loja. Adicionalmente se recopiló información de los propietarios a través de una encuesta para conocer la presentación de aborto en los apriscos, y además registrar datos como la procedencia, el sexo y la edad de los animales.

- **Procesamiento de muestras**

En el laboratorio se procedió a centrifugar las muestras durante 5 minutos a 1500 g para la obtención de suero sanguíneo. El suero se conservó a – 20 °C en el laboratorio del Centro de Biotecnología de la Universidad Nacional de Loja hasta su procesamiento por medio de la prueba ELISA indirecto.

- **ELISA indirecto**

ELISA indirecto es un método de diagnóstico para la detección de anticuerpos dirigidos contra *Chlamydophila abortus*. El ID Screen® *Chlamydophila abortus* Indirect Multi- species ELISA utiliza un antígeno sintético procedente de una proteína de la membrana externa (Momp, “Majeur outer membrane protein»), reduciendo de este modo la frecuencia de reacciones no específicas. Para una mayor comprensión el procedimiento, validación e interpretación se encuentran descritos en el Anexo 1.

### 5.2.5. *Procesamiento y análisis de la información*

Se presentaron las variables de forma descriptiva, y se usaron medidas de tendencia central y frecuencias absolutas y relativas para variables categóricas. Para determinar asociación entre la presencia de anticuerpos y las variables independientes previamente mencionadas, se empleó Chi cuadrado o test de Fisher, considerando un valor de p menor o igual a 0,05 como estadísticamente significativo. Para dichos análisis se empleó el software estadístico de libre acceso R studio (versión 1.1.463).

### 5.2.6. *Variables de estudio*

La Tabla 2 indica las diferentes variables del estudio, de igual forma las definiciones, categorías, unidades de medida y los instrumentos con los que se recopiló la información.

**Tabla 2.** Caracterización de las variables dependiente e independientes por animal

<b>Variab</b> les	<b>Definición</b>	<b>Categorías</b>	<b>Unidades</b>	<b>Instrumentos</b>
<b>Dependiente</b>				
Resultado de ELISA indirecto para aborto enzoótico	Este método serológico usado para detectar anticuerpos contra <i>Chlamydomphila abortus</i> , a partir de un antígeno sintético procedente de una proteína de la membrana externa	Positivo Negativo	Porcentaje (%)	Prueba ELISA indirecto
<b>Independientes</b>				
<b>Individuales</b>				
Edad	Tiempo en años de vida del animal estudiado	Grupo etario 1 (1-3 años) Grupo etario 2 (> 3 años)	Porcentaje (%)	Encuesta epidemiológica
Sexo	Características de los individuos que los identifican y los clasifica de acuerdo a la presencia de órganos genitales y parámetros fisiológicos de la reproducción	Macho Hembra	Porcentaje (%)	Encuesta epidemiológica
<b>Por apriscos</b>				
Procedencia	Lugar de origen de los animales de estudio	Sectores	Porcentaje (%)	Encuesta epidemiológica
Presencia de aborto	Presencia o no de aborto en los apriscos de estudio	Si No	Porcentaje (%)	Encueta epidemiológica

### 5.2.7. *Consideraciones éticas*

Antes de la autorización de los propietarios para la toma de muestras y recopilación de información, se le informó sobre el propósito de la investigación y el procedimiento a realizar

con el material obtenido. La manipulación de los animales se realizó de forma técnica y de acuerdo a las normas de bienestar animal, para evitar el estrés de las cabras; todo esto fundamentado en las normas para el cuidado y uso de animales en investigación según el código Orgánico del Ambiente (ROS N°983, Ecuador. Art. 142).

## 6. Resultados

### 6.1. Características de los animales y apriscos estudiados

Del total de animales estudiados, la mayoría (77,17 %) pertenecen al rango etario de 1-3 años, asimismo gran parte fueron hembras (91,3 %), un alto porcentaje de cabras procedieron del barrio Guasimal (23,9 %), Chaquiro y Cabeza de Toro (21,7 % en cada uno), y con respecto a la presencia de abortos en los apriscos casi la totalidad (94,74 %) tuvieron este problema (Tabla 3).

**Tabla 3.** Características de los animales y apriscos estudiados (n=92).

Características	N	%
<b>Edad</b>		
1-3 años	71	77,17
> 3	21	22,82
<b>Sexo</b>		
Macho	8	8,7
Hembra	84	91,3
<b>Procedencia</b>		
Guasimal	22	23,9
Cabeza de Toro	20	21,7
Chaquiro	20	21,7
Totomitos	15	16,3
Las Torres	5	5,4
Limonés	5	5,4
Paletilla	5	5,4
<b>Presencia de abortos</b>		
Si	18	94,74
No	1	5,26

### 6.2. Frecuencia de infección por *Chlamydia abortus* y factores asociados

No existió diferencia significativa ( $p > 0,05$ ) entre la presencia de *Chlamydia abortus* y las variables por animal edad y sexo (Tabla 4), de igual forma en las variables por aprisco procedencia y presencia de abortos (Tabla 5).

El 3,26 % (3/92) de los animales estudiados fueron positivos a la presencia de anticuerpos contra *Chlamydia abortus* mediante el análisis ELISA indirecto (Tabla 4). De estos animales, dos estuvieron dentro del grupo etario 1, mientras que, según el sexo, todas fueron hembras (Tabla 4).

**Tabla 4.** Frecuencia de infección por *Chlamydia abortus* y factores asociados por animal.

Características	Total	Positivos		Negativos		Valor de p
		N	%	N	%	
<b>Edad</b>						0,62
1-3 años	71	2	2,17	69	75,00	
> 3 años	21	1	1,09	20	21,74	
<b>Sexo</b>						1
Hembras	84	3	3,26	81	88,04	
Machos	8	0	0,00	8	8,70	
<b>Total</b>	92	3	3,26	89	96,74	

Según se muestra en la tabla 5, en tres de los 19 apriscos en los que se registró la presencia de aborto hubo animales seropositivos (15,79 %), mientras que, de acuerdo a la procedencia, los apriscos con animales infectados eran de los sectores Guasimal (10,53 %) y Cabeza de Toro (5,26 %).

**Tabla 5.** Frecuencia de infección por *Chlamydia abortus* y factores asociados por aprisco.

Características	Total	Positivo		Negativo		Valor de p
		N	%	N	%	
<b>Procedencia</b>						0,74
Cabeza de Toro	4	1	5,26	3	15,79	
Chaquiro	4	0	0,00	4	21,05	
Guasimal	5	2	10,53	3	15,79	
Las Torres	1	0	0,00	1	5,26	
Limonas	1	0	0,00	1	5,26	
Paletilla	1	0	0,00	1	5,26	
Totomitos	3	0	0,00	3	15,79	
<b>Presencia de aborto</b>						1
No	1	0	0,00	1	5,26	
Si	18	3	15,79	15	78,95	

## 7. Discusión

En el presente estudio se utilizó la técnica de ELISA indirecto para buscar la presencia de anticuerpos contra *Chlamydia abortus*, encontrándose una frecuencia del 3,26 % entre animales y del 15,79 % entre apriscos, lo cual resulta bajo respecto a reportes en otros países de la región, sin embargo, no se han reportado casos de aborto enzoótico en caprinos en el país por lo que esta constituye la primera evidencia de exposición al agente en cabras del Ecuador.

Di Paolo et al., (2019) reportaron el primer brote de aborto enzoótico en Argentina en el año 2019, el estudio se realizó en un hato de 400 cabras, de las cuales 70 fueron positivas a *Chlamydia abortus* mediante PCR. En Brasil se ha estudiado la prevalencia de esta enfermedad desde hace algunos años atrás, teniendo en uno de los reportes más recientes una frecuencia de 18,45 % (93/504) (César et al., 2021). En México un reciente estudio en cabras con antecedentes de aborto mostró 9,6 % de animales positivos, lo cual sugiere que *Chlamydia abortus* juega un papel fundamental en animales con antecedentes de aborto (Sánchez et al., 2021). Con esto queda en evidencia la amplia distribución de la enfermedad en países del continente, por otra parte, actualmente este patógeno es considerado el más común en casos de aborto infecto contagioso en ovinos y caprinos en Estados Unidos (Tibary, 2021).

Por lo antes dicho, es necesario tomar en cuenta la importancia de implementar medidas de control eficientes debido a que el comercio ilegal de animales puede traer consigo la introducción del agente etiológico como lo mencionan (Aulestia & Capa, 2019), causando pérdidas económicas a los capricultores, además de ser un riesgo para la salud pública por su potencial zoonótico.

Los factores sexo, edad, procedencia y presencia de abortos dentro de los apriscos muestreados no estuvieron asociados a la presencia de aborto enzoótico en este estudio. Con respecto a la edad respecto, autores de otros estudios realizados en Brasil y el noreste de Irán concuerdan en que no existe asociación con esta variable (Bezerra et al., 2016; Iraninezhad et al., 2020). La información que se tiene acerca de *Chlamydia spp.* en machos de esta especie es limitada, lo cual no implica que este patógeno no haya sido detectado en otras especies, causando alteraciones del aparato reproductor e infertilidad (Eckert et al., 2019).

Iraninezhad et al., (2020) mencionan que la edad no se asocia a la presencia de esta enfermedad coincidiendo con lo encontrado en la presente investigación; sin embargo, esto resulta contradictorio a lo que presenta el artículo de Qin et al., (2014) quienes fundamentan

que a medida que aumenta la edad, las probabilidades de exposición a la enfermedad son mayores. Esto podría deberse a que las cabras con mayor prolificidad son conservadas dentro de las producciones por varios años, lo que genera que las hembras se desgasten por los procesos fisiológicos del parto y postparto y la repuesta del sistema inmune no sea igual a la de un animal joven (Zhou et al., 2013).

En cuanto a la procedencia, esta no resulta asociada a la infección, y la comparación con otros estudio al menos en el país no es posible ya que no se encuentran reportes de esta enfermedad en áreas aledañas al sitio de estudio; sin embargo, al ser una enfermedad de distribución mundial se podría deducir que la zona geográfica no es uno de los factores asociados más relevantes en la presencia de aborto enzoótico, debido a que los cuerpos elementales de la bacteria que se liberan al medio ambiente presentan una alta resistencia a condiciones desfavorables, manteniéndose infecciosos durante unos días cuando las temperaturas son suaves, en ambientes secos y calurosos; mientras que algunas semanas hasta varios meses en temperaturas más bajas, por debajo de congelación (Turin et al., 2022) .

Otros factores que han sido considerados en varias investigaciones sugieren que la introducción de animales de reemplazo sin registros previos contribuye a la diseminación del patógeno en lugares donde anteriormente no se reportaba la enfermedad (Barkallah et al., 2018). El sistema de producción intensivo se encuentra asociado a la presencia de *Chlamydia abortus* debido a las características de manejo y a la mayor densidad de animales, lo que además genera estrés e inmunosupresión de los animales (Kardjadj et al., 2016; Thrusfield, 2006). Adicionalmente Palomares et al., (2020) mencionan que las producciones extensivas presentan menor frecuencia de enfermedades infectocontagiosas, lo que corrobora que la propagación de la enfermedad es acelerada en producciones intensivas.

A través de la encuesta epidemiológica realizada en cada finca se obtuvo como resultado la presencia de abortos en un 95 %, a pesar de lo cual, este factor no resultó asociado con la presencia de anticuerpos contra *Chlamydia abortus*, por lo cual se puede considerar que otros agentes infecciosos (bacterianos, víricos y protozoarios) y no infecciosos (sistema de producción y las condiciones de manejo) probablemente intervienen en la presentación de abortos en pequeños rumiantes (Dorsch et al., 2021; Gebremedhin et al., 2013).

## 8. Conclusiones

- En esta investigación la frecuencia de anticuerpos por animal contra *Chlamydia abortus* en cabras del cantón Zapotillo fue del 3,26 % (3/92) y por aprisco fue del 15,79 % (3/19) mediante ELISA indirecto, siendo este el primer reporte acerca de la detección de anticuerpos contra el agente patógeno en el Ecuador.
- Las variables sexo, edad, procedencia y presencia de abortos dentro de los apriscos no se consideran factores asociados a la presencia de la enfermedad en cabras del cantón Zapotillo de la provincia de Loja.
- La presencia de abortos en los apriscos de la parroquia Limones del cantón Zapotillo es muy frecuente (94,4 %), por lo que se puede considerar la intervención de otros agentes patógenos, así como factores no infecciosos.

## 9. Recomendaciones

- Se recomienda desarrollar estudios en los que se emplee pruebas de diagnóstico directo como reacción en cadena de polimerasa (PCR) o inmunohistoquímica (IHQ), las cuales se pueden trabajar con diferentes muestras biológicas de los animales como residuos de abortos con lo que se puede tener una mayor especificidad y determinar la presencia de *Chlamydia abortus* en el cantón Zapotillo.
- *Chlamydia abortus* es un agente que no solo afecta a caprinos, sino que también puede encontrarse en ovinos y bovinos, por lo cual se debe considerar realizar investigaciones en todo el país, sobre todo en las zonas fronterizas, ya que en los últimos años la enfermedad ha sido reportada en países vecinos.
- Se recomienda abordar el estudio del aborto enzoótico desde un enfoque One Health, sobre todo por el potencial zoonótico del agente infeccioso.

## 10. Bibliografía

- AbdelRahman, Y. M., & Belland, R. J. (2005). The chlamydial developmental cycle. In *FEMS Microbiology Reviews* (Vol. 29, Issue 5, pp. 949–959). <https://doi.org/10.1016/j.femsre.2005.03.002>
- Aldama, F., Montes de Oca, R., & Varela, J. (2022, March 13). Diagnóstico, prevención y control de enfermedades causadas por *Chlamydia* en pequeños rumiantes. Revisión. *Revista Mexicana de Ciencias Pecuarias*, 725–742. <https://www.scielo.org.mx/pdf/rmcp/v13n3/2448-6698-rmcp-13-03-725.pdf>
- Araújo, 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., & Lima, A. M. C. (2018). Seroprevalence and risk factors of *Chlamydia abortus* infection in goats of the state of Rio Grande do Norte, Brazil. *Acta Scientiae Veterinariae*, 46(1). <https://doi.org/10.22456/1679-9216.85633>
- Arellano, B. (2015). Aislamiento de *Chlamydia abortus* en rebaños caprinos lecheros y su relación con casos de aborto en Guanajuato, México. *Veterinaria México OA*.
- Aulestia, E., & Capa, E. (2019). El comercio informal transfronterizo de productos agrarios y su repercusión en el sistema agroalimentario ecuatoriano. *Aldea Mundo*, 22, 34–44.
- Aydin, S. (2015). A short history, principles, and types of ELISA, and our laboratory experience with peptide/protein analyses using ELISA. *Peptides*, 72, 4–15. <https://doi.org/10.1016/J.PEPTIDES.2015.04.012>
- Barkallah, M., Jribi, H., Ben Slima, A., Gharbi, Y., Mallek, Z., Gautier, M., Fendri, I., & Gdoura, R. (2018). Molecular prevalence of *Chlamydia* and *Chlamydia*-like bacteria in Tunisian domestic ruminant farms and their influencing risk factors. *Transboundary and Emerging Diseases*, 65(2), e329–e338. <https://doi.org/10.1111/tbed.12757>
- Bayramova, F., Jacquier, N., & Greub, G. (2018). Insight in the biology of *Chlamydia*-related bacteria. In *Microbes and Infection* (Vol. 20, Issues 7–8, pp. 432–440). Elsevier Masson SAS. <https://doi.org/10.1016/j.micinf.2017.11.008>
- Bedotti, D., & Rossangio, C. (2011). Manual Reconocimiento de enfermedades del Caprino. Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria, 82(ISSN 0325-2132), 24.
- Benaissa, M. H., Mimoune, N., Youngs, C. R., Kaidi, R., & Faye, B. (2020). First report of *Chlamydia abortus* infection in the dromedary camel (*Camelus dromedarius*)

population in eastern Algeria. *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases*, 73. <https://doi.org/10.1016/j.cimid.2020.101557>

Berri, M., Rekiki, A., Boumedine, K. S., & Rodolakis, A. (2009). Simultaneous differential detection of *Chlamydophila abortus*, *Chlamydophila pecorum* and *Coxiella burnetii* from aborted ruminant's clinical samples using multiplex PCR. *BMC Microbiology*, 9. <https://doi.org/10.1186/1471-2180-9-130>

Bezerra, T., Pinheiro, R. R., Alves, F. S. F., Porfirio, K. de P., Rêgo, W. M. F. do, Diniz, B. L. M., Cardoso, J. de F. S., & Paula, N. R. de O. (2016). Fatores de risco na transmissão e soroprevalência da infecção de *Chlamydophila abortus* a ovinos e caprinos. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 51(5), 654–660. <https://doi.org/10.1590/s0100-204x2016000500028>

Caro, M. R., Buendía, A. J., Del Rio, L., Ortega, N., Gallego, M. C., Cuello, F., Navarro, J. A., Sanchez, J., & Salinas, J. (2009). *Chlamydophila abortus* infection in the mouse: a useful model of the ovine disease. *Veterinary Microbiology*, 135(1–2), 103–111. <https://doi.org/10.1016/J.VETMIC.2008.09.029>

Castro, R., Solla, M., Díaz, E., Limón, M., Romero, A., Enríquez, I., Castro, N., Rodríguez, M., Montero, A., & Díaz, D. (2021). Prevalencia de *Chlamydia abortus* en cabras con problemas de aborto en la zona centro de Sinaloa, México. <http://biotecnia.unison.mx>

César, A., Fernandes, F., Pinheiro, R., Alves, S., De Farias, D., Andrioli, A., Xavier E, A., Dos Santos, M., De Fatima Saraiva Cardoso, J., & De Oliveira Paula, N. (2021). Risk factors associated with seroprevalence of *Chlamydia abortus* in sheep farms in Ceará, Brazil. *Acta Scientiae Veterinariae*, 49. <https://doi.org/10.22456/1679-9216.108045>

Chacón, G., Polledo Ruiz, L., Benito, A. A., Arnal, J. L., & González Pérez, J. (2017). Abortos por *Toxoplasma gondii*, *Coxiella burnetii* y *Chlamydophila abortus* en pequeños rumiantes. Estudio comparativo entre qPCR y lesiones anatomopatológicas. XLII Congreso Nacional y XVIII Internacional de La Sociedad Española de Ovinotecnia y Caprinotecnia (SEOC), 2017, ISBN 978-84-9012-793-3, Págs. 333-340, 333–340. <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=8689114&info=resumen&idioma=EN>

G

- Cheong, H. C., Lee, C. Y. Q., Cheok, Y. Y., Tan, G. M. Y., Looi, C. Y., & Wong, W. F. (2019). Chlamydiaceae: Diseases in primary hosts and zoonosis. In *Microorganisms* (Vol. 7, Issue 5). MDPI AG. <https://doi.org/10.3390/microorganisms7050146>
- Cisneros, J. (2015). Página | 1 Gobierno Autónomo Descentralizado de la Parroquia Limones.
- Dabanch P., J. (2003). Zoonosis. *Revista Chilena de Infectología*, 20(SUPPL. 1), 47–51. <https://doi.org/10.2307/j.ctvxw3p70.22>
- De Jesús Aldama, F., De Oca Jiménez, R. M., & Guerrero, J. A. V. (2022). Diagnosis, prevention and control of diseases caused by Chlamydia in small ruminants. Review. In *Revista Mexicana De Ciencias Pecuarias* (Vol. 13, Issue 3, pp. 725–742). INIFAP-CENID Parasitología Veterinaria. <https://doi.org/10.22319/rmcp.v13i3.5564>
- Di Paolo, L. A., Alvarado Pinedo, M. F., Origlia, J., Fernández, G., Uzal, F. A., & Travería, G. E. (2019). First report of caprine abortions due to Chlamydia abortus in Argentina. *Veterinary Medicine and Science*, 5(2), 162–167. <https://doi.org/10.1002/vms3.145>
- Diab, S., & Uzal, F. (2010). Diagnóstico De Las Causas Más Comunes De Aborto Infeccioso En Ovinos y Caprinos. *Sitio Argentino de Producción Animal*, 2–3.
- Djellata, N., Yahimi, A., Hanzen, C., Saegerman, C., & Kaidi, R. (2019). Prevalence and factors associated with a higher or lower risk of exposure to Coxiella burnetii, Chlamydia abortus and Toxoplasma gondii in dairy cows that have aborted in Algeria. *Revue Scientifique et Technique (International Office of Epizootics)*, 38(3), 775–786. <https://doi.org/10.20506/RST.38.3.3025>
- Dorsch, M. A., Cantón, G. J., Driemeier, D., Anderson, M. L., Moeller, R. B., & Giannitti, F. (2021). Bacterial, protozoal and viral abortions in sheep and goats in South America: A review. *Small Ruminant Research*, 205, 106547. <https://doi.org/10.1016/J.SMALLRUMRES.2021.106547>
- Eckert, T., Goericke-Pesch, S., Heydel, C., Bergmann, M., Kauffold, J., Failing, K., & Wehrend, A. (2019). Interaction of different Chlamydiae species with bovine spermatozoa. *BMC Microbiology*, 19(1). <https://doi.org/10.1186/s12866-019-1392-z>
- Entrican, G., Buxton, D., & Longbottom, D. (2001). Chlamydial infection in sheep: immune control versus fetal pathology. In *J R Soc Med* (Vol. 94).

- Entrican, G., Wheelhouse, N., Wattegedera, S. R., & Longbottom, D. (2012). New challenges for vaccination to prevent chlamydial abortion in sheep. *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases*, 35(3), 271–276. <https://doi.org/10.1016/j.cimid.2011.12.001>
- Essig, A., & Longbottom, D. (2015). *Chlamydia abortus*: New Aspects of Infectious Abortion in Sheep and Potential Risk for Pregnant Women. In *Current Clinical Microbiology Reports* (Vol. 2, Issue 1, pp. 22–34). Springer. <https://doi.org/10.1007/s40588-015-0014-2>
- Fayez, M., Elmoslemany, A., Alorabi, M., Alkafafy, M., Qasim, I., Al-Marri, T., & Elsohaby, I. (2021). Seroprevalence and Risk Factors Associated with *Chlamydia abortus* Infection in Sheep and Goats in Eastern Saudi Arabia. *Pathogens* 2021, Vol. 10, Page 489, 10(4), 489. <https://doi.org/10.3390/PATHOGENS10040489>
- Fernández, M., Ferreras, M., García, J., & Pérez, V. (2012). Abortos en la Especie Ovina: Caracterización Lesional y Diagnóstico en Castilla y León. Instituto de Ganadería de Montaña (CSIC-ULE), Dpto. de Sanidad Animal (Anatomía Patológica), Facultad de Veterinaria, Universidad de León, Campus de Vegazana s/n, 24071 León. , 322–325.
- Garvin, L. E., DeBoer, A. G., Carrell, S. J., Wang, X., & Rockey, D. D. (2022). Microscopic Analysis of the *Chlamydia abortus* Inclusion and Its Interaction with Those Formed by Other Chlamydial Species. *Infection and Immunity*, 90(3). <https://doi.org/10.1128/IAI.00499-21>
- Gebremedhin, E. Z., Agonafir, A., Tessema, T. S., Tilahun, G., Medhin, G., Vitale, M., & Di Marco, V. (2013). Some risk factors for reproductive failures and contribution of *Toxoplasma gondii* infection in sheep and goats of Central Ethiopia: A cross-sectional study. *Research in Veterinary Science*, 95(3), 894–900. <https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2013.08.007>
- Gibson da Silva, F., Freitas, J., & Müller, E. (2006). *Chlamydia abortus* em animais de produção. *Ciência Rural*, Santa Maria, 36(ISSN 0103-8478), 342–348.
- Heidari, S., Derakhshandeh, A., Firouzi, R., Ansari-Lari, M., Masoudian, M., & Eraghi, V. (2018). Molecular detection of *Chlamydia abortus*, *Coxiella burnetii*, and *Mycoplasma agalactiae* in small ruminants' aborted fetuses in southern Iran. *Tropical*

Animal Health and Production, 50(4), 779–785. <https://doi.org/10.1007/s11250-017-1494-2>

- Iraninezhad, Z., Azizzadeh, M., Razavizadeh, A., Mehrzad, J., & Rashtibalf, M. (2020). Seroepidemiological feature of Chlamydia abortus in sheep and goat population located in northeastern Iran. *Revista Enfermagem*, 28, 1–7. <https://doi.org/10.30466/vrf.2019.101946.2429>
- Kardjadj, M., Kouidri, B., Metref, D., Luka, P. D., & Ben-Mahdi, M. H. (2016). Abortion and various associated risk factors in small ruminants in Algeria. *Preventive Veterinary Medicine*, 123, 97–101. <https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2015.11.015>
- Klement, E., Sergeant, E., Pospischil, A., Álvarez, J., García-Seco, T., Pérez-Sancho, M., Salinas, J., Navarro, A., Díez-Guerrier, A., García, N., Pozo, P., Goyache, J., & Domínguez, L. (2016). Effect of Preventive Chlamydia abortus Vaccination in Offspring Development in Sheep Challenged Experimentally. 3. <https://doi.org/10.3389/fvets.2016.00067>
- König, L., Siegl, A., Penz, T., Haider, S., Wentrup, C., Polzin, J., Mann, E., Schmitz-Esser, S., Domman, D., & Horn, M. (2017). Biphasic Metabolism and Host Interaction of a Chlamydial Symbiont. *MSystems*, 2(3). <https://doi.org/10.1128/msystems.00202-16>
- Lenira, M. (2010). Medidas de Bioseguridad para los Criadores de Caprinos y Ovinos. National Center For Foreign Animal And Zoonotic Disease Defense. <https://iiad.tamu.edu/wp-content/uploads/2012/06/Meat-Goat-and-Sheep-Part1-Spanish.pdf>
- Linzitto, O., Stanchi, N., Lujan, M., Bautista, E., Berstein, J., Basualdo, J., Rodríguez, M., & Gomez, M. (2016). Chlamydia y Chlamydophila Métodos Diagnósticos En El Laboratorio.
- Livingstone, M., Wheelhouse, N., Ensor, H., Rocchi, M., Maley, S., Aitchison, K., Wattedgedera, S., Wilson, K., Sait, M., Siarkou, V., Vretou, E., Entrican, G., Dagleish, M., & Longbottom, D. (2017). Pathogenic outcome following experimental infection of sheep with Chlamydia abortus variant strains LLG and POS. *PLoS ONE*, 12(5). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0177653>
- Livingstone, M., Wheelhouse, N., Maley, S. W., & Longbottom, D. (2009). Molecular detection of Chlamydophila abortus in post-abortion sheep at oestrus and subsequent

- lambing. *Veterinary Microbiology*, 135(1–2), 134–141.  
<https://doi.org/10.1016/J.VETMIC.2008.09.033>
- Loli, J., & Morales, S. (2020). Prevalencia de Anticuerpos Contra *Chlamydia abortus* en Bovinos de Crianza Extensiva de los Distritos de Coracora, Chumpi, y Pullo de la Provincia de Parinacochas, Ayacucho.
- Longbottom, D., & Coulter, L. J. (2003). Animal Chlamydioses and Zoonotic Implications. *Journal of Comparative Pathology*, 128(4), 217–244.  
<https://doi.org/10.1053/JCPA.2002.0629>
- Martínez, A., Bincaz, J., Brihuega, B., Sheridan, M. L., Mozgovoij, M. V., Parreño, G. V., Gos, M. L., & Robles, C. A. (2020). Relevamiento sanitario en caprinos en una zona de peri-valle de la provincia de Río Negro, Argentina.  
<https://ri.conicet.gov.ar/handle/11336/103682>
- Martínez, M., Díaz, E., Palomares, G., Tórtora, J. L., Ramírez, H., Ortega, N., Salinas, J., Morales, J. F., & Cervantes, J. J. C. (2022). Presence of *Chlamydia abortus* in colostrum, milk, and vaginal discharge samples of sheep. *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias*, 35(3), 165–173. <https://doi.org/10.17533/udea.rccp.v35n2a04>
- Müggenburg, M., & Pérez, I. (2007). Tipos de estudio en el enfoque de investigación cuantitativa. *Revista Enfermería Universitaria ENEO-UNAM*, 4(1).
- Navarro, J. A., García De La Fuente, J. N., Sánchez, J., Martínez, C. M., Buendía, A. J., Gutiérrez-Martín, C. B., Rodríguez-Ferri, E. F., Ortega, N., & Salinas, J. (2004). Kinetics of infection and effects on the placenta of *Chlamydia abortus* in experimentally infected pregnant ewes. *Veterinary Pathology*, 41(5), 498–505.  
<https://doi.org/10.1354/VP.41-5-498>
- Nietfeld, J. C. (2001). Chlamydial Infections in Small Ruminants. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*, 17(2), 301–314. [https://doi.org/10.1016/S0749-0720\(15\)30030-X](https://doi.org/10.1016/S0749-0720(15)30030-X)
- OIE. (2018). *Enzootic Abortion Of Ewes (Ovine Chlamydiosis) (Infection with Chlamydia Abortus)*. Chapter 3.7.5., 1456–1465.

- OIE. (2022). Acceso en línea al Código Terrestre - OMSA - Organización Mundial de Sanidad Animal. <https://www.woah.org/es/que-hacemos/normas/codigos-y-manuales/acceso-en-linea-al-codigo-terrestre/?id=169&L=1&htmfile=preface.htm>
- OMSA. (2023). Aborto enzoótico de las ovejas Organización Mundial de Sanidad Animal. <https://www.woah.org/es/enfermedad/aborto-enzootico-de-las-ovejas/>
- O'Neill, L. M., O'Driscoll, & Markey, B. (2018). Comparison of three commercial serological tests for the detection of *Chlamydia abortus* infection in ewes. *Irish Veterinary Journal*, 71(1). <https://doi.org/10.1186/s13620-018-0124-2>
- Orjuela, A. G., Reyes Castañeda, L. J., Tobón, J. C., Parra Arango, J. L., & Guzmán-Barragán, B. (2022). Seroprevalence of antibodies to *Chlamydia abortus* and risk factors in cattle from Villavicencio, Colombia. *Heliyon*, 8(5), e09481. <https://doi.org/10.1016/J.HELIYON.2022.E09481>
- Palomares, E., Sánchez, P., Romero, F., De la Cruz Colín, L., Severiano, H., Corona, J., Morales, M., & 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(3), 783–794. <https://doi.org/10.22319/RMCP.V11I3.5269>
- Pesántez, Manuel., & Sánchez, Davinia. (2017). La Caprinocultura en Ecuador: Un sector próspero y emergente. *El Caprino En El Mundo*, International Goat Association (IGA).
- Qin, S. Y., Yin, M. Y., Cong, W., Zhou, D. H., Zhang, X. X., Zhao, Q., Zhu, X. Q., Zhou, J. Z., & Qian, A. D. (2014). Seroprevalence and risk factors of *chlamydia abortus* infection in Tibetan sheep in Gansu Province, Northwest China. *Scientific World Journal*, 2014. <https://doi.org/10.1155/2014/193464>
- Rodolakis, A., & Laroucau, K. (2015). Chlamydiaceae and chlamydial infections in sheep or goats. *Veterinary Microbiology*, 181(1–2), 107–118. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2015.07.010>
- Rodolakis, A., & Yousef, K. (2010). Zoonotic potential of *Chlamydophila*. *Veterinary Microbiology*. 140–143. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2009.03.014>
- Sachse, K., Vretou, E., Livingstone, M., Borel, N., Pospischil, A., & Longbottom, D. (2009). Recent developments in the laboratory diagnosis of chlamydial infections. *Veterinary Microbiology*, 135(1–2), 2–21. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2008.09.040>

- SAG. (2019). Ficha Técnica Aborto Enzoótico Ovino (AEO).
- Saldías, M., Lecocq, C., Quezada, M., Claudia Ávila, udeccl, & José Segovia, M. (2014). Aborto enzoótico ovino (AEO) en Chile Implementación de técnicas de laboratorio.
- Sánchez, L., Arellano, B., Hernández, R., Palomares, G., Barradas, F., & Díaz, E. (2021). Presencia de Chlamydia abortus en cabras con historial de abortos en México. *Abanico Veterinario*, 11. <https://doi.org/10.21929/abavet2021.26>
- Sargison, N. D., Truysers, I. G. R., Howie, F. E., Thomson, J. R., Cox, A. L., Livingstone, M., & Longbottom, D. (2015). Identification of the 1B vaccine strain of Chlamydia abortus in aborted placentas during the investigation of toxæmic and systemic disease in sheep. *New Zealand Veterinary Journal*, 63(5), 284–287. <https://doi.org/10.1080/00480169.2015.1018365>
- Selim, A., Manaa, E. A., Waheed, R. M., & Alanazi, A. D. (2021). Seroprevalence, associated risk factors analysis and first molecular characterization of chlamydia abortus among Egyptian sheep. *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases*, 74. <https://doi.org/10.1016/j.cimid.2020.101600>
- Špičić, S., Račić, I., Andrijanić, M., Duvnjak, S., Zdelar-Tuk, M., Stepanić, M., & Cvetnić, Ž. (2015). Emerging cases of chlamydial abortion in sheep and goats in Croatia and Bosnia and Herzegovina Sanja Duvnjak Croatian Veterinary Institute Emerging cases of chlamydial abortion in sheep and goats in Croatia and Bosnia and Herzegovina Vorkommen von Chlamydienaborten bei Schafen und Ziegen in Kroatien und Bosnien und Herzegovina. *Berl Münch Tierärztl Wochenschr*, 128. <https://doi.org/10.2376/0005-9366-128-183>
- Staub, E., Marti, H., Biondi, R., Levi, A., Donati, M., Leonard, C. A., Ley, S. D., Pillonel, T., Greub, G., Seth-Smith, H. M. B., & Borel, N. (2018). Novel Chlamydia species isolated from snakes are temperature-sensitive and exhibit decreased susceptibility to azithromycin. *Scientific Reports*, 8(1). <https://doi.org/10.1038/s41598-018-23897-z>
- Thrusfield, M. V. (2006). *Veterinary Epidemiology*, 3rd ed. *The Canadian Veterinary Journal*, 47(11), 1117. [/pmc/articles/PMC1624926/](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/1624926/)
- Tibary, A. (2021). Aborto en cabras - Sistema reproductivo - Manual veterinario MSD. <https://www.msddvetmanual.com/reproductive-system/abortion-in-large-animals/abortion-in-goats>

- Turin, L., Surini, S., Wheelhouse, N., & Rocchi, M. S. (2022). Recent advances and public health implications for environmental exposure to *Chlamydia abortus*: from enzootic to zoonotic disease. In *Veterinary research* (Vol. 53, Issue 1, p. 37). NLM (Medline). <https://doi.org/10.1186/s13567-022-01052-x>
- Van Den Brom, R., Lievaart-Peterson, K., Luttikholt, S., Peperkamp, K., Wouda, W., & Vellema, P. (2012). Abortion in small ruminants in the Netherlands between 2006 and 2011. *Tijdschrift Voor Diergeneeskunde*, 137(7), 450–457. <https://europepmc.org/article/med/22900421>
- Wilson, K., Livingstone, M., & Longbottom, D. (2009). Comparative evaluation of eight serological assays for diagnosing *Chlamydia abortus* infection in sheep. *Veterinary Microbiology*, 135(1–2), 38–45. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2008.09.043>
- Zar, Eba-Marchewka, K., Szymá Nska-Czerwí Nska, M., Livingstone, M., Longbottom, D., & Niemczuk, K. (2021). Whole Genome Sequencing and Comparative Genome Analyses of *Chlamydia abortus* Strains of Avian Origin Suggests That *Chlamydia abortus* Species Should Be Expanded to Include Avian and Mammalian Subgroups. <https://doi.org/10.3390/pathogens>
- Zhou, D.-H., Zhao, F.-R., Xia, H.-Y., Xu, M.-J., Huang, S.-Y., Song, H.-Q., & Zhu, X.-Q. (2013). Seroprevalence of chlamydial infection in dairy cattle in Guangzhou, southern China. <http://www.irishvetjournal.org/content/66/1/2>

## 11. Anexos.

### Anexo 1. Técnica de ELISA indirecto *Chlamydophilia abortus*.

- **Descripción y principio**

Los pocillos están sensibilizados con un antígeno específico de *Chlamydophilia abortus* Momp. Las muestras a analizar y los controles son distribuidos en los pocillos. En presencia de anticuerpos anti-*Chlamydophilia* formando un complejo antígeno-anticuerpo-conjugado-HRP.

- **Materiales, equipos y reactivos**

*Tabla 6. Materiales, equipos y reactivos técnica ELISA indirecto*

Materiales	Equipo	Reactivos
Micropipeta de 10 µl	Vortex	Microplacas sensibilizadas con el antígeno de <i>Chlamydophilia</i>
Micropipeta de 100 µl	Lector de ELISA	Conjugado concentrado (10X)
Puntas de pipetas blancas 0,5 a 10 µl	Lavador de placas automático	Control positivo
Puntas de pipetas amarillas de 10 a 100 µl	Incubadora de placa	Control negativo
Microplaca de predilución de 96 pocillos.		Diluyente 13
Agua destilada o desionizada		Diluyente 3
		Solución de lavado concentrada (20X)
		Solución de revelación
		Solución de parada (0.5M)

- **Procedimiento**

Colocar todos los reactivos a temperatura ambiente (21°C 5°C) antes de ser utilizados y homogenizarlos por vortex o por inversión.

1. Distribuir 90 µl de Diluyente 13 en cada pocillo.

2. Distribuir:

10 µl de Control Negativo en los pocillos A1 y B1.

10 µl de Control Positivo en los pocillos C1 y D1.

10 µl de las muestras a analizar en cada uno de los pocillos restantes.

3. Incubar 45 min a 21°C (5°C).

4. Vaciar los pocillos. Lavar 3 veces cada pocillo con aproximadamente 300 µl de Solución de lavado. Evitar el desecado entre los lavados.

5. Preparar el Conjugado 1X diluyendo el Conjugado Concentrado 10X al 1:10 con Diluyente 3.

6. Distribuir 100 µl de Conjugado 1X a cada pocillo.

7. Incubar 30 min a 21°C (5°C).

8. Vaciar los pocillos. Lavar 3 veces cada pocillo con aproximadamente 300 µl de Solución de lavado. Evitar el desecado entre los lavados.

9. Distribuir 100 µl de Solución de revelación a todos los pocillos

10. Incubar 15 min a 21°C (5°C) en la oscuridad.

11. Distribuir 100 µl de solución de parada a todos los pocillos para detener la reacción.

12. Leer a una densidad óptica de 450 nm.

• **Validación e Interpretación**

Para cada muestra, calcular el porcentaje S/P (S/P%):

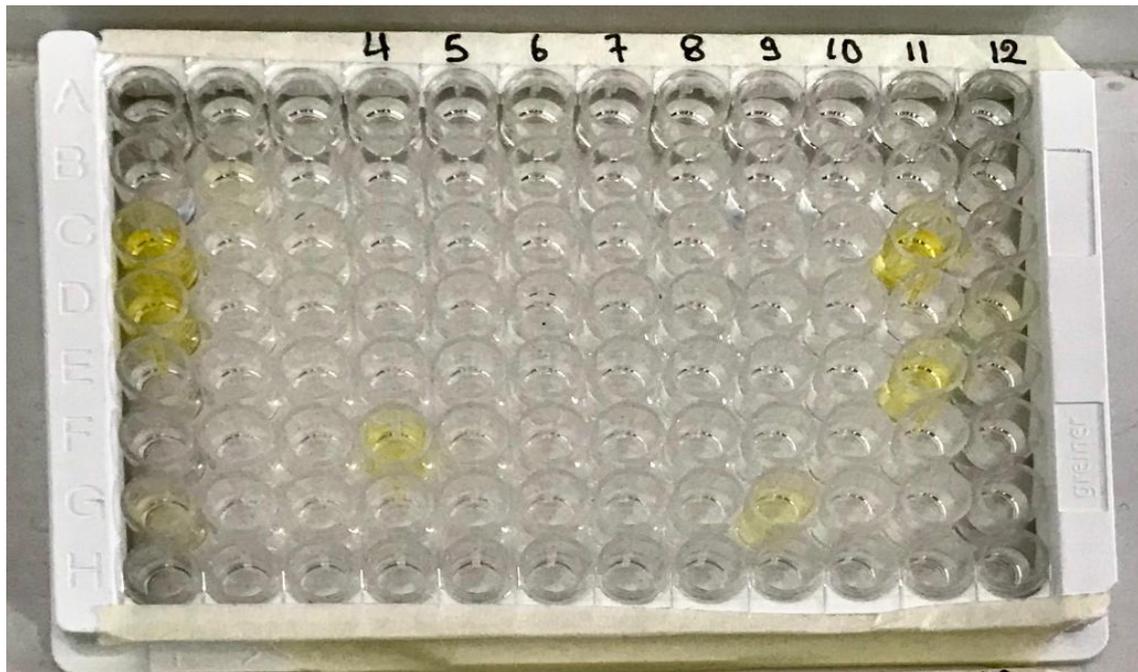
$$S/P \% = \frac{DO}{DO_{CP}} \times 100$$

Las muestras que se presentan en S/P%:

- Inferior o igual a 50% son consideradas como negativas.
- Superior a 50% e inferior a 60% son consideradas como dudosas.
- Superior o igual a 60% son consideradas como positivas.

<b>Resultado</b>	<b>Estatus</b>
S/P % ≤ 50%	NEGATIVO
50% < S/P % < 60%	DUDOSO
S/P % ≥ 60%	POSITIVO

**Anexo 2.** Placa de ELISA indirecto para *Chlamydia abortus*, detección de anticuerpos.



**Anexo 3.** Densidades ópticas obtenidas con el lector de ELISA

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
<b>A</b>												
CALL												
CalcOD	0.076	0.126	0.085	0.106	0.105	0.308	0.206	0.342	0.083	0.090	0.056	0.096
Well	NC	NC	SMP13	SMP14	SMP29	SMP30	SMP45	SMP46	SMP61	SMP62	SMP77	SMP78
RSLT												
<b>B</b>												
CALL												
CalcOD	0.066	0.155	0.088	0.063	0.085	0.131	0.126	0.104	0.065	0.062	0.061	0.263
Well	PC	PC	SMP15	SMP16	SMP31	SMP32	SMP47	SMP48	SMP63	SMP64	SMP79	SMP80
RSLT												
<b>C</b>												
CALL												
CalcOD	1.284	0.057	0.209	0.139	0.092	0.130	0.103	0.118	0.154	0.050	1.418	0.106
Well	SMP1	SMP2	SMP17	SMP18	SMP33	SMP34	SMP49	SMP50	SMP65	SMP66	SMP81	SMP82
RSLT												
<b>D</b>												
CALL												
CalcOD	1.088	0.082	0.089	0.093	0.081	0.122	0.178	0.116	0.081	0.060	0.054	0.511
Well	SMP3	SMP4	SMP19	SMP20	SMP35	SMP36	SMP51	SMP52	SMP67	SMP68	SMP83	SMP84
RSLT												
<b>E</b>												
CALL												
CalcOD	0.099	0.075	0.154	0.114	0.107	0.121	0.057	0.082	0.082	0.079	0.964	0.102
Well	SMP5	SMP6	SMP21	SMP22	SMP37	SMP38	SMP53	SMP54	SMP69	SMP70	SMP85	SMP86
RSLT												
<b>F</b>												
CALL												
CalcOD	0.163	0.091	0.077	0.766	0.235	0.131	0.095	0.087	0.131	0.225	0.158	0.073
Well	SMP7	SMP8	SMP23	SMP24	SMP39	SMP40	SMP55	SMP56	SMP71	SMP72	SMP87	SMP88
RSLT												
<b>G</b>												
CALL												
CalcOD	0.369	0.089	0.110	0.120	0.094	0.162	0.098	0.160	0.551	0.059	0.139	0.104
Well	SMP9	SMP10	SMP25	SMP26	SMP41	SMP42	SMP57	SMP58	SMP73	SMP74	SMP89	SMP90
RSLT												
<b>H</b>												
CALL												
CalcOD	0.100	0.141	0.078	0.077	0.076	0.081	0.107	0.134	0.135	0.098	0.131	0.088
Well	SMP11	SMP12	SMP27	SMP28	SMP43	SMP44	SMP59	SMP60	SMP75	SMP76	SMP91	SMP92
RSLT												

