

Abanico Veterinario. Janeiro-Dezembro 2021; 11:1-14. <http://dx.doi.org/10.21929/abavet2021.26>  
Artigo Original. Recebido: 02/03/2021. Aceito: 02/06/2021. Publicado: 10/06/2021. Chave: e2021-2.

## Existência de *Chlamydia abortus* em cabras com uma história de abortos no México

## Presence of *Chlamydia abortus* in goats with a history of abortions in Mexico

Sánchez-Rocha Liliana<sup>1</sup>ID, Arellano-Reynoso Beatriz<sup>1\*</sup>ID, Hernández-Castro Rigoberto<sup>2</sup> ID, Palomares-Resendiz Gabriela<sup>3</sup> ID, Barradas-Piña Francisco<sup>4</sup> ID, Díaz-Aparicio Efrén<sup>3</sup> ID

<sup>1</sup>Departamento de Microbiología, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Nacional Autónoma de México, Circuito Exterior de Ciudad Universitaria, Coyoacán, Ciudad de México, 04510, México. <sup>2</sup>Departamento de Ecología de Agentes Patógenos, Hospital General “Dr. Manuel Gea González”, Tlalpan, Ciudad de México, 14080, México. <sup>3</sup>CENID Salud Animal e Inocuidad, Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias, Carretera Federal México-Toluca Km. 15.5, Cuajimalpa, Ciudad de México, 05110, México. <sup>4</sup>CE La Posta, Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias, Km. 22.5 Carretera Federal Veracruz-Córdoba Paso del Toro, C.P. 94277, Municipio de Medellín de Bravo, Veracruz, México. \*Autor responsável e para correspondência: Beatriz Arellano Reynoso. E-mail: [liliana\\_srocha@hotmail.com](mailto:liliana_srocha@hotmail.com), [arerey@yahoo.com](mailto:arerey@yahoo.com), [rigo31@yahoo.com](mailto:rigo31@yahoo.com), [gabio\\_1704@hotmail.com](mailto:gabio_1704@hotmail.com), [fcobarradast@gmail.com](mailto:fcobarradast@gmail.com), [efredia@yahoo.com](mailto:efredia@yahoo.com)

### RESUMO

A *Chlamydia abortus* causa abortos ou nascimentos prematuros em ruminantes; além disso, é uma zoonose que pode causar abortos ou pneumonia em pessoas que têm contacto com animais doentes ou as suas secreções. O objectivo deste estudo era isolar *C. abortus* de caprinos mexicanos com historial de aborto e de caprinos recentemente paridos com historial de aborto; foram recolhidas 186 amostras de 49 rebanhos nos estados de Coahuila, Jalisco, Puebla, Veracruz e Querétaro. O isolamento bacteriano de amostras clínicas foi realizado utilizando a linha de células fibroblásticas L929 do rato e a identificação molecular foi obtida através da amplificação dum fragmento de 342 bp correspondente à região RNA do ribossómero 16S-23S. Os produtos de amplificação foram sequenciados e comparados com a base de dados do GenBank. O isolamento identificou 23,1% das amostras e a PCR identificou 9,6% como positivas. A pesquisa homológica revelou uma identidade 100% com *Chlamydia abortus* EF486854, U76710, U68444, entre outros. A presença de *C. abortus* foi confirmada em caprinos com história de aborto no México por isolamento bacteriano, PCR e sequenciação. Estas descobertas sugerem que *C. abortus* desempenhou um papel substancial em caprinos com uma história de aborto no México.

**Palavras-chave:** *Chlamydia abortus*, caprinos, abortos, México.

### ABSTRACT

*Chlamydia abortus* causes a series of reproductive disorders in ruminants, including abortions, premature births and stillbirths. Additionally, as a zoonosis, it can cause miscarriages or pneumonia in people who come in contact with sick animals or their secretions. The objective of this study was to isolate *C. abortus* from Mexican goats with a history of abortion and from recently parturient goats with a history of abortion; 186 samples were collected from 49 herds in Coahuila, Jalisco, Puebla, Veracruz and Querétaro states. Bacterial isolation of the clinical samples was performed using the mouse fibroblast cell line L929 and molecular identification was achieved by amplification of a 342 bp fragment corresponding to the 16S-23S

ribosomal intergenic spacer RNA region. The amplification products were sequenced and compared with the GenBank database. Isolation identified 23.1% of the samples and PCR identified 9.6% as positive. Homology search revealed 100% identity with *Chlamydia abortus* EF486854, U76710, U68444, among others. The presence of *C. abortus* was confirmed in goats with a history of abortion in Mexico by bacterial isolation, PCR and sequencing. These findings suggest that *C. abortus* played a substantial role in goats with a history of abortion in Mexico.

**Keywords:** *Chlamydia abortus*, goats, abortions, Mexico, chlamydiosis.

## INTRODUÇÃO

A Clamidiose é uma doença infecciosa que ocorre nos ovinos, caprinos e vacas a nível global, causando problemas reprodutivos incluindo abortos, nados-mortos, e descendentes fracos ou prematuros que morrem pouco depois do nascimento. O agente etiológico, *Chlamydia abortus*, é a principal causa de perdas reprodutivas em caprinos e ovinos nos países do norte de Europa, e causa aproximadamente 44% de todos os abortos infecciosos diagnosticados no Reino Unido (Stuen e Longbottom, 2011). Sendo uma zoonose, *C. abortus* apresenta o maior risco para as mulheres grávidas, porque é capaz de colonizar a placenta humana levando ao aborto. A pneumonia respiratória atípica foi também descrita em trabalhadores que entraram em contacto com ruminantes (Longbottom e Coulter, 2003; Ortega et al., 2015; Pichon et al., 2020). A clamídia é uma bactéria Gram-negativa e um parasito intracelular obrigatório. Apresenta um ciclo de desenvolvimento assíncrono multimórfico com duas fases, os corpos elementares e reticulares, ambos com lipopolissacáridos. Ao contrário da típica parede celular bacteriana, as paredes celulares de *Chlamydia* não apresentam ácido murâmico (Rodolakis e Laroucau, 2015).

No México, a clamidiose em caprinos e ovinos, bem como o papel da clamídia nos abortos de ovelhas foram relatados pela primeira vez nos anos 90 (Escalante et al., 1996). O primeiro isolamento de *C. abortus* (então *C. psittaci* serótipo 1) em caprinos foi publicado em 1997 (Escalante et al., 1997). Em 2001, a *Chlamydia* demonstrou estar presente num processo zoonótico que teve origem num rebanho caprino infectado (Escalante et al., 2001). *C. abortus* (então *Chlamydophila abortus*) foi demonstrado em caprinos usando serologia e isolamento em 2004, e novamente em 2005, 2006 e 2008 ((Lazcano, 2006; Soriano et al., 2011). Em 2011, um estudo encontrou *C. abortus* em 26,9% das cabras amostradas no estado de Guanajuato, México, atingindo 9,60% de seropositividade (Mora et al., 2015). Palomares et al. (2020) avaliaram a frequência serológica individual e do rebanho, bem como os factores de risco para o *C. abortus* em sete estados produtores de ovinos no México, e identificaram o aborto enzótico nas ovelhas. Dado este contexto, o objectivo deste estudo era determinar se o *C. abortus* está presente em casos de aborto de caprinos em diferentes regiões do México.

## MATERIAL E MÉTODOS

### Amostras

Este estudo foi realizado entre Agosto de 2016 e Fevereiro de 2018. Obtivemos um total de 186 exsudados vaginais de 49 rebanhos com abortos relatados em cinco estados do México. O estado de Coahuila forneceu 82 amostras (44,10%) de 24 manadas, seguido por Veracruz com 67 amostras (36,02%) de 18 manadas, Jalisco com 25 amostras (13,44%) de três manadas, Querétaro com sete amostras (3,76%) duma manada, e Puebla com cinco amostras (2,68%) de três manadas.

Todas as amostras foram de raça mista, e as condições de criação variaram por estado. As amostras de Jalisco e Queretaro provinham de manadas estáveis mantidas como reprodutoras sob gestão intensiva. Estes animais foram alimentados com dietas equilibradas com suplementos minerais e não coexistiram com outras espécies animais. Em contraste, os caprinos de Puebla, Coahuila e Veracruz eram mantidos sob condições de gestão extensiva para a produção de carne, quer comercialmente quer para consumo não comercial. Estes rebanhos passavam as manhãs a pastar em vegetação não gerida e ao longo das bermas das estradas e eram criados dum dia para o outro sem suplemento alimentar adicional. Estas cabras coabitavam com outras espécies animais nos currais, principalmente com ovelhas e galinhas, assim como cavalos, cães e gatos.

Fizemos uma amostragem de caprinos que tinham abortado recentemente ou que tinham dado à luz recentemente com um historial de abortos (não mais do que 30 dias em ambos os casos). Foram colhidas amostras vaginais com esfregaços esterilizados e transportadas em tubos com 2 ml de meio de fosfato de sucrose/glutamato (SPG) (217 mM sucrose, 4 mM  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ , 7 mM  $\text{K}_2\text{HPO}_4$ , e 1% L-glutamina), suplementado com 10% de soro fetal bovino (SFB); GIBCO, EUA) e antibióticos (100  $\mu\text{g/ml}$  de estreptomicina, 50  $\mu\text{g/ml}$  de gentamicina; Invitrogen, EUA) ([Sachse et al., 2009](#)). No laboratório, as amostras foram mantidas a  $-20^\circ\text{C}$  até ao processamento. As experiências envolvendo amostras e clamídia viva foram realizadas num laboratório de biossegurança de tipo III. Para a técnica imunofluorescente e reacções de PCR, utilizámos uma estirpe de *C. abortus* A.22 gentilmente doada por Petter C. Griffiths do The Central Veterinary Laboratory, Reino Unido, em 1993. Esta amostra foi importada ao abrigo do certificado zoosanitário nº 27491.

### Isolamento bacteriano

O isolamento bacteriano foi realizado em fibroblastos de rato da linha celular L929. As células foram cultivadas no meio mínimo essencial da Águia (EEMM; Invitrogen, USA), suplementado com 10% de soro fetal bovino (SFB), 1% de aminoácidos não essenciais, 1% de L-glutamina a  $37^\circ\text{C}$ , e 5% de  $\text{CO}_2$  ([Escalante et al., 1996](#)). Para identificar corpos

de clamídia, utilizámos  $0,9 \times 10^5$  células por poço, em placas de cultura de poliestireno de 24 poços com lamelas de vidro estéreis de 12 mm de diâmetro (Mora *et al.*, 2015). A identificação de inclusões intracitoplasmáticas produzidas por *C. abortus* foi realizada através de técnica imunofluorescente directa, utilizando testes comerciais IMGEN de clamídia (OXOID, UK), de acordo com as instruções do fabricante. As inclusões intracitoplasmáticas foram visualizadas num microscópio UV (Leica DM1000) com objectivos 40X e 100X. Uma amostra foi considerada negativa após duas passagens cegas sem detecção de inclusão intracitoplasmática.

### **Extracção de ADN**

As amostras de exsudado vaginal foram homogeneizadas e depois 500 µl de cada uma foram transferidas para um micro tubo estéril que foi inactivado a 80°C durante 20 minutos. Em seguida, 100 µl de tampão líquido (50 mM NaCl, 125 mM EDTA, 50 mM Tris HCl, pH 7,6), e 50 µl de 24% SDS (3,4% concentração final) foram adicionados e incubados a 80°C durante 10 min. Posteriormente, adicionou-se RNase a 75 µg/ml de concentração final, e incubou-se durante 2 h a 50°C, seguido de proteinase K (USB, Ohio, EUA) a uma concentração final de 325 µg/ml e incubou-se a 50°C durante 90 min a mais. Depois, adicionámos um volume 25:24:1 de fenol, clorofórmio e álcool isoamílico (Sigma-Aldrich, EUA), misturado durante 15 min, e centrifugado a 16.060 g durante 5 min à temperatura ambiente.

Finalmente, 0,6 volumes de isopropanol foram adicionados ao sobrenadante e centrifugados a 16.060 g durante 15 min. O ADN resultante foi lavado com etanol frio a 70% e centrifugado a 16.060 g durante 5 min. O ADN foi ressuspendido com 25 µl de água sem ADN.

### **Identificação molecular**

A identificação molecular foi realizada através de PCR usando iniciadores que amplificam um espaçador intergénico de RNA ribossómico 16S-23S de 342 bp. Os iniciadores foram concebidos com o programa IDT SciTools Primer Quest<sup>SM</sup>, utilizando a sequência de óperas ribossómicas *C. abortus* A.22 depositadas no GenBank com número de acesso U68444.1 (Everett *et al.*, 1997). As reacções PCR foram realizadas num volume final de 50 µl, incluindo 1X tampão PCR, 3 mM MgCl<sub>2</sub>, 400 µM dNTP's, 25 pmol de cada primer, 1 U DreamTaq Polimerase (Thermo, EUA), e 50 ng de ADN. *C. abortus* A.22 estirpe foi utilizada como controlo positivo.

O protocolo de amplificação consistiu num ciclo inicial de desnaturação de 5 min a 95°C, 40 ciclos a 95°C durante 1 min, 63°C durante 30 s, 72°C durante 1 min, e uma extensão final a 72°C durante 10 min. Foram observados produtos de amplificação num gel de agarose a 1% (Thermo, EUA) corado com brometo de etídio (0,5 µg/ml).

As amostras consideradas positivas para *C. abortus* através de PCR foram purificadas usando o sistema comercial de extração de gel QIAquick, seguindo as instruções do fabricante. A sequenciação do produto foi realizada em ambos os sentidos através do método Taq FS Dye Dye Terminator Cycle Sequencing Fluorescence-Based Sequencing. A sequência de consenso e o alinhamento da sequência foram alcançados com o programa Vector NTI.

As sequências do espaçador intergênico RNA ribossômico 16S-23S obtidas neste estudo foram submetidas a pesquisas BLAST na base de dados GenBank. Foram estabelecidos alinhamentos múltiplos utilizando sequências do gênero *Chlamydia* disponíveis no GenBank com algoritmos Clustal W e Muscle incluídos no software MEGA versão 7.0.26 (Kumar *et al.*, 2016). A reconstrução filogenética foi conduzida utilizando uma abordagem Bayesiana com MrBayes versão 3.2 (Ronquist *et al.*, 2012). A análise foi realizada durante 3.000.000 gerações com árvores de amostragem a cada 100 gerações. As árvores com pontuações inferiores às da fase estacionária ("burn-in") foram descartadas, e as árvores que atingiram a fase estacionária foram recolhidas e utilizadas para construir árvores de consenso maioritário.

## RESULTADOS

As células L929 foram infectadas com amostras clínicas e a imunofluorescência foi utilizada para visualizar inclusões clamídias. No total, foram encontradas inclusões em 43 de 186 amostras avaliadas (23,11%), ou 18 de 82 amostras de Coahuila, 13 de 67 de Veracruz, sete de 25 de Jalisco, e cinco de sete de Querétaro (Quadro 1).

**Tabela 1. Visão geral dos resultados obtidos com as técnicas bacteriológicas e de PCR utilizadas nas amostras de exsudados vaginais**

Origem - Estados	Amostras	Positivo para o isolamento bacteriano	Positivo para PCR
Veracruz	67	13	2
Jalisco	25	7	5
Coahuila	82	18	5
Querétaro	7	5	6
Puebla	5	0	0
Total	186	43	18
Percentagens totais	100 %	23.19 %	9.68 %

A análise PCR revelou que 18 das 186 amostras de ADN de exsudado vaginal foram positivas para *C. abortus*. Em todas as regiões amostradas, Querétaro teve seis amostras positivas, Coahuila e Jalisco tiveram cada uma cinco amostras positivas, Veracruz teve duas, e as amostras de Puebla não tiveram resultados positivos.

Identificamos a zona de amplificação incluindo 70 bp da subunidade ribossômica 16S, uma região intergênica 105 bp, a subunidade ribossômica 115 bp 5S, outra região

intergênica 3 bp, e a subunidade ribossômica 49 bp 23S. As sequências foram editadas com o programa Vector NTI e a pesquisa homóloga foi realizada na base de dados GenBank (BLASTn), encontrando uma identidade de 100% com *Chlamydia abortus* EF486854, U76710, U68444, entre outros. A *Chlamydia abortus* FMVZ455365 foi a única estirpe que apresentou uma homologia diferente das outras estirpes, isto devido a uma simples mudança numa base C/T na posição 236, contudo esta estirpe mostrou 100 identidades com *C. abortus* CP031646, LS450958 e KX870501, entre outras. As sequências completas obtidas para o *C. abortus* foram depositadas no GenBank sob números de adesão: FMVZ0Y55 (MZ093042), FMVZ455376 (MZ099638), FMVZ0Y54 (MZ099636), FMVZ455365 (MZ093041), FMVZ45535 (MZ093043), FMVZ9505 (MZ099635), e FMVZ959595 (MZ099634) (Figura 1).

## DISCUSSÃO

Os resultados revelaram a presença de *C. abortus* em cabras de quatro dos cinco estados mexicanos da amostra. Num estudo anterior, *C. abortus* foi isolado de cabras do estado de Guanajuato que tinham abortado (Mora *et al.*, 2015).

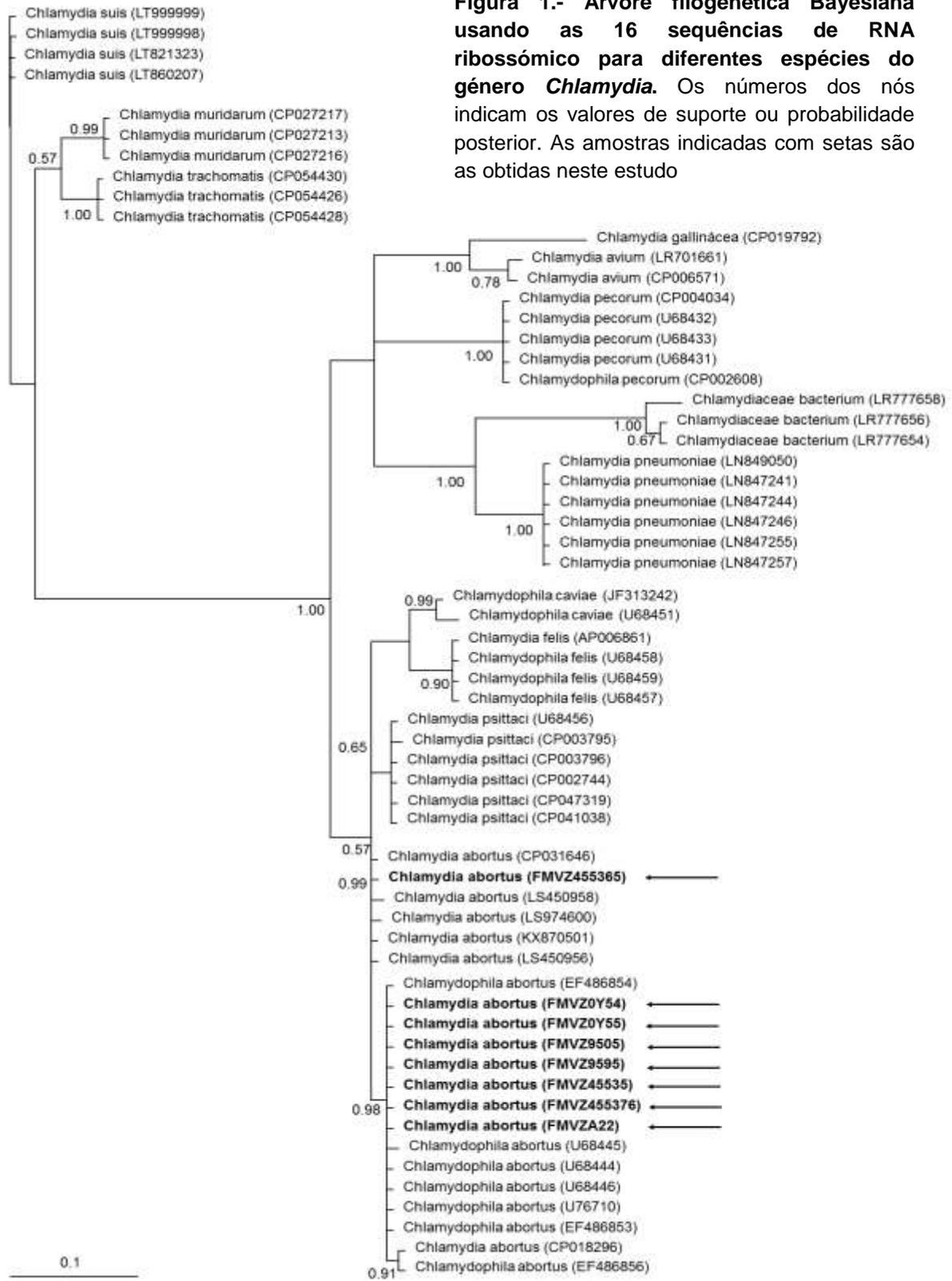
Existem diferentes causas de aborto infeccioso ou não infeccioso em ruminantes, e a má nutrição durante a gestação parece ser a mais comum nos sistemas de produção extensiva de caprinos. Falta de alimentos, longas distâncias entre áreas de pastagem e abrigo, exposição a temperaturas elevadas e falta de água potável são condições frequentes de pastagem durante a estação seca que podem causar stress que leva ao aborto. Contudo, dado que *C. abortus* é sempre um agente patogénico e não faz parte da flora bacteriana, isolando este microorganismo em rebanhos onde vários animais apresentam falhas reprodutivas pode ser tomado como um diagnóstico definitivo e preciso ((Mellado *et al.*, 2004; Urrutia *et al.*, 2015; OIE, 2018).

O isolamento é o teste padrão de ouro para demonstrar a presença de *C. abortus*, mas as inconsistências na cultura de células, incluindo a morte durante o transporte, a preservação inadequada da amostra, ou a contaminação podem levar a uma baixa sensibilidade (Thejls *et al.*, 1994; Sachse *et al.*, 2009). Ao complementar o isolamento com PCR, encontramos 18/186 (9,23%) amostras positivas. Os nossos resultados são inferiores aos descritos por Mora *et al.* (2015), que relataram 30/125 (24%) amostras de exsudado vaginal positivo por PCR e foram capazes de confirmar 88,23% das amostras positivas obtidas a partir do isolamento. No presente estudo, a PCR apenas confirmou 42,8% dos resultados positivos observados através do isolamento. Podemos ter observado falsos negativos devido à baixa carga bacteriana da amostra, contaminação cruzada da amostra ou porque outros elementos presentes nas amostras de exsudado vaginal podem ter inibido a PCR (OIE, 2018). Sabe-se que alguns elementos normalmente presentes nas amostras clínicas afectam por vezes a sensibilidade do

ensaio, ou mesmo impedem a amplificação do ADN ([Schrader et al., 2012](#)). Estes elementos incluem polissacarídeos, cálcio, colagénio, hemoglobina, sacarose e proteinases que têm origem no próprio animal ou na sua flora bacteriana.

Em contraste, embora inferior a [Mora et al. \(2015\)](#), a nossa taxa de confirmação da positividade PCR foi superior à relatada por [Campos-Hernández et al. \(2014\)](#). Nesse estudo, que avaliou 246 amostras por PCR, a presença de *C. abortus* só pôde ser confirmada no baço de um feto abortado. Do mesmo modo, os nossos resultados de PCR positivos são mais elevados do que os de alguns estudos europeus. Um relatório da Itália ([Chisu et al., 2013](#)) utilizou a PCR para detectar 3/40 (7,5%) amostras positivas em rebanhos de ovinos com elevada incidência de abortos. Em contraste com o nosso estudo, a sua avaliação teve menos amostras, mas estas vieram de placentas. Por outro lado, um estudo realizado na Alemanha ([Lenzko et al., 2011](#)) amostrou 32 rebanhos de caprinos com taxas de aborto inferiores a 1%. Analisaram 352 exsudados vaginais usando PCR, e os seus resultados revelaram que 28 animais (7,95%) foram positivos para *C. abortus*. Estes dados indicam que as infecções por clamídia ocorrem frequentemente nesta região mesmo na ausência de altas taxas de aborto, o que pode ser devido à endemicidade da doença na região ([Lenzko et al., 2011](#)).

Enquanto as placentas e os fetos abortados são os tecidos com a maior carga bacteriana, e portanto, a melhor fonte de isolamento bacteriano ([Sachse et al., 2009](#); [Rodolakis e Laroucau, 2015](#)), as condições de criação do rebanho amostrado inviabilizaram a recolha destes tecidos. A maioria dos rebanhos do nosso estudo são mantidos sob sistemas de gestão extensivos, onde cabras não vigiadas percorrem muitos quilómetros para chegar a pastagens comunitárias. Como estas condições de campo inviabilizam a recuperação e recolha de fetos e placentas, em vez disso recolhemos exsudados vaginais. Estudos tanto do México como de outros países mostraram que os exsudados vaginais são amostras adequadas e podem ser amplamente utilizados para diagnóstico. ([Papp et al., 1994](#); [Jiménez-Estrada et al., 2008](#); [Gutierrez et al., 2011](#); [Campos-Henández et al., 2014](#); [Mora et al., 2015](#); [Laroucau et al., 2018](#); [O' Neill et al., 2019](#)).



Embora seja aceite que trabalhar com tecidos que têm uma elevada carga bacteriana favorece o nível de sensibilidade à PCR ([Livingstone et al. 2009](#)), outros estudos no México utilizaram com sucesso a PCR para detectar *C. abortus* em exsudados vaginais. Em 2008, um estudo analisou 304 exsudados vaginais de ovinos com um historial de abortos provenientes do estado do México (Estado do México). Este estudo encontrou 0,65% de positividade ([Jiménez-Estrada et al., 2008](#)) que é uma taxa de positividade mais baixa do que a dos nossos resultados. É possível que as práticas de criação que permitem interações entre ovinos e caprinos predisponham a disseminação da *Chlamydia* entre os rebanhos.

Como parte da identificação das espécies de *Chlamydia* envolvidas no nosso estudo, e especificamente para descartar a possibilidade de outra bactéria ser responsável por abortos em caprinos (nomeadamente *C. pecorum*), foi necessário complementar a PCR com a sequenciação amplificada de fragmentos.

As sequências mostraram uma alta identidade com a maioria das sequências de *C. abortus*, disponíveis nas bases de dados. Resultado semelhante foi obtido quando foram efectuadas análises filogenéticas, observando-se pouca variação no clade do *C. abortus* FMVZ455365, que aparentemente separava as estirpes mexicanas de *C. abortus* com uma probabilidade posterior de 98 e 99%, respectivamente.

A partir de 2016, a clamídia tem sido considerada endémica no México ([DOF, 2016](#)). Antes disso, tinha sido considerada exótica, o que impedia a implementação de técnicas de diagnóstico e de medidas de controlo, o que, por sua vez, favorecia a propagação da doença. É possível que as consequências da presença de *Chlamydia abortus* no México sejam semelhantes às relatadas a nível mundial, e que a falta dos instrumentos de detecção necessários tenha fomentado a sua presença no México sem que esta se tenha tornado evidente ([Sachse et al., 2009](#)). Além disso, a análise de estudos tanto de ovinos como de caprinos pode mostrar que a bactéria se disseminou por todo o país, mas não na mesma proporção em diferentes regiões. De facto, resultados serológicos positivos de áreas no México com populações caprinas importantes (distribuídas pelo Norte, Centro, Oeste e Leste do país) parecem mostrar que a falta de diagnóstico de rotina antes do transporte de animais fomentou a propagação da doença, e riscos sanitários e socioeconómicos concomitantes ([Mora et al., 2015](#); [Campos-Henández et al., 2014](#); [Jiménez-Estrada et al., 2008](#)).

O objectivo do nosso estudo era determinar a presença de *Chlamydia* spp. em algumas importantes regiões produtoras de caprinos no México. Embora o tipo de amostragem que utilizámos não nos permitisse medir a prevalência da doença, os nossos resultados mostraram que a *Chlamydia abortus* estava isolada em 23% das cabras que tinham sofrido abortos. Isto é uma prova de que a *C. abortus* é um patogénico importante que

requer atenção, bem como a implementação de medidas de controlo, tanto em caprinos como noutras espécies produtivas em que temos provas da doença. Estudos serológicos recentes em vacas leiteiras mexicanas com abortos e doenças reprodutivas mostraram que dum total de 833 amostras analisadas, 90 (10,8%) testaram positivo para o *C. abortus*. No estado de Guanajuato, 6% (15/237) dos animais testados seropositivos e 18,5% (15/81) dos efectivos amostrados têm pelo menos um animal seropositivo (Limón et al., 2011). Um estudo serológico realizado em efectivos ovinos entre 2011 e 2013, analisou 5.321 amostras de sangue de ovelhas de 209 unidades de produção em 61 municípios em sete estados do México, e encontrou taxas de positividade entre 24% e 67% (Palomares et al., 2020). É necessário realizar mais investigação tanto sobre a prevalência como sobre a distribuição de *C. abortus* para compreender melhor o seu impacto nos caprinos e na produção no México. Medidas pertinentes para controlar e prevenir a transmissão de *C. abortus* entre animais também precisam de ser implementadas a fim de evitar a infecção humana. Além disso, é necessário prestar especial atenção no que diz respeito à educação e sensibilização para o risco de doenças para as pessoas que trabalham directamente com animais, bem como nos laboratórios de microbiologia, dado que os casos humanos de infecções por *C. abortus* resultam da exposição a ovinos, caprinos, aerossóis, e materiais contaminados (Longbottom e Coulter, 2003; Ortega et al., 2015; Pichon et al., 2020).

## CONCLUSÃO

O presente estudo confirma que *Chlamydia abortus* é encontrada em cabras mexicanas que fizeram abortos, nos estados de Coahuila, Jalisco, Queretaro, e Veracruz. Além disso, que a *Chlamydia abortus* é o agente etiológico da clamidiose, que apoia e confirma a presença da clamidiose no México. É da maior importância estudar a distribuição desta bactéria pelo México, a fim de implementar medidas de prevenção e controlo para evitar a propagação de doenças, bem como para diminuir o risco de infecção humana.

Declaração de conflito de interesses

Os autores não têm nada a declarar.

## LITERATURA CITADA

CAMPOS-HERNÁNDEZ E, Vázquez-Chagoyán JC, Salem AZ, Saltijeral-Oaxaca JA, Escalante-Ochoa C, López-Heydeck SM, de Oca-Jiménez RM. 2014. Prevalence and molecular identification of *Chlamydia abortus* in commercial dairy goat farms in a hot region in Mexico. *Tropical Animal Health and Production*. 46(6):919-924. <https://doi.org/10.1007/s11250-014-0585-6>

CHISU V, Porcu R, Tanda A, Masala G. 2013. First isolation and characterization of *Chlamydophila abortus* from abortion tissues of sheep in Sardinia, Italy. *Veterinaria Italiana*. 49(4):331-334. <https://doi.org/10.12834/VetIt.1303.10>

DOF (Diario oficial de la Federación). 2016. Acuerdo mediante el cual se dan a conocer en los Estados Unidos Mexicanos las enfermedades y plagas exóticas y endémicas de notificación obligatoria de los animales terrestres y acuáticos. 4 de mayo de 2016. [http://www.dof.gob.mx/nota\\_detalle.php?codigo=5436016&fecha=04/05/2016](http://www.dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=5436016&fecha=04/05/2016)

ESCALANTE OC, Díaz A, Segundo Z, Suárez G. 1997. Isolation of *Chlamydia psittaci* involved in abortion of goats in Mexico: First Report. *Revista Latinoamericana de Microbiología*. 39(3-4):117-121. PMID: 10932720. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10932720/>

ESCALANTE OC, Lazcano A, Soberón M. 2001. *Chlamydophila* spp. Como agente zoonótico en México: Reporte de un caso. Abstracts of XXXVII Reunión Nacional de Investigación Pecuaria. Tuxtla Gutierrez, Chiapas, México. Pp. 41. ISSN: 24485284.

ESCALANTE OC, Rivera F, Trigo T, Romero M. 1996. Detection of *Chlamydia psittaci* in enteric subclinical infections in adult sheep through cell culture isolation. *Revista Latinoamericana de Microbiología*. 38(1):17-23. PMID: 8783901. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/8783901/>

EVERETT KD, Andersen AA. 1999. Identification of nine species of the *Chlamydiaceae* using PCR-RFLP. *International Journal of Systematic Bacteriology*. 49(2): 803-813. <https://doi.org/10.1099/00207713-49-2-803>

EVERETT KD, Andersen AA. 1997. The ribosomal intergenic spacer and domain I of the 23S rRNA gene are phylogenetic markers for *Chlamydia* spp. *International Journal of Systematic Bacteriology*. 47(2): 461-473. <https://doi.org/10.1099/00207713-47-2-461>

GUTIERREZ J, Williams EJ, O'Donovan J, Brady C, Proctor AF, Marques PX, Worrall S, Nally JE, McElroy M, Bassett HF, Sammin DJ, Markeya BK. 2011. Monitoring clinical outcomes, pathological changes and shedding of *Chlamydophila abortus* following experimental challenge of periparturient ewes utilizing the natural route of infection. *Veterinary Microbiology*. 147(1-2):119-126. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2010.06.015>

JIMÉNEZ-ESTRADA JM, Escobedo-Guerra MR, Arteaga-troncoso G, López-hurtado M, De Haro-Cruz MDJ, Montes de Oca JR, Guerra-Infante FM. 2008. Detection of *Chlamydophila abortus* in Sheep (*Ovis aries*) in Mexico. *American Journal of Animal and Veterinary Sciences*. 3(4):91-95. <https://thescipub.com/abstract/ajavsp.2008.91.95>

KUMAR S, Stecher G, Tamura K. 2016. MEGA7: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 7.0 for bigger datasets. *Molecular Biology and Evolution*. 33(7):1870-1874. <https://doi.org/10.1093/molbev/msw054>

LAROUCAU K, Aaziz R, Vorimore F, Menard MF, Longbottom D, Denis G. 2018. Abortion storm induced by the live *C. abortus* vaccine 1B strain in a vaccinated sheep flock, mimicking a natural wild-type infection. *Veterinary Microbiology*. 225:31-33. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2018.09.012>

LAZCANO AC. 2006. Detección de *Chlamydophila* spp. en rebaños caprinos del Estado de Michoacán mediante técnica inmunodiagnóstica ELISA y aislamiento bacteriológico. Tesis de Licenciatura. Universidad Nacional Autónoma de México, CDMX, México. [https://ru.dgb.unam.mx/handle/DGB\\_UNAM/5/browse?type=author&order=ASC&rpp=20&value=Lazcano+Arrebillaga%2C+Cnidia](https://ru.dgb.unam.mx/handle/DGB_UNAM/5/browse?type=author&order=ASC&rpp=20&value=Lazcano+Arrebillaga%2C+Cnidia)

LENZKO H, Moog U, Henning K, Lederbach R, Diller R, Menge C, Sachse K, Sprague LD. 2011. High frequency of chlamydial co-infections in clinically healthy sheep flocks. *BMC Veterinary Research*. 7(29). <https://doi.org/10.1186/1746-6148-7-29>

LIMÓN GMM, Favila HLC, Herrera LE, Lozano DRR, Meléndez SRM, Morales AJF, Díaz AE, Vitela MI, Córdova LD. 2011. Clamidofilosis en vacas lecheras con problemas reproductivos en Guanajuato y Aguascalientes: Resultados preliminares. Abstracts of XLVII Reunión Nacional de Investigación Pecuaria, Mérida, Yucatán, México. ISBN: 978-60-425-582-9.

LIVINGSTONE M, Wheelhouse N, Maley SW, 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>

LONGBOTTOM D, Coulter LJ. 2003. Animal chlamydioses and zoonotic implications. *Journal of Comparative Pathology*. 128(4):217-244. <https://doi.org/10.1053/jcpa.2002.0629>

MELLADO M, Valdez R, Lara LM, García JE. 2004. Risk factors involved in conception, abortion, and kidding rates of goats under extensive conditions. *Small Ruminant Research*. 55 (1-3):191-198. <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2003.10.016>

MORA DJC, Díaz AE, Herrera LE, Suárez GF, Escalante OC, Jaimes VS, and Arellano-Reynoso B. 2015. Isolation of *Chlamydia abortus* in dairy goat herds and its relation to abortion in Guanajuato, Mexico. *Veterinaria Mexico OA*. 2(1). <https://doi.org/10.21753/vmoa.2.1.339>

OIE (Organización mundial de sanidad animal). 2018. Manual terrestre de la OIE. Capítulo 3.7.5. Aborto enzoótico de las ovejas (Clamidiosis ovina) (Infección por *Chlamydia abortus*). [https://www.oie.int/fileadmin/Home/esp/Health\\_standards/tahm/3.07.05\\_Aborto\\_enz\\_ov\\_ejas.pdf](https://www.oie.int/fileadmin/Home/esp/Health_standards/tahm/3.07.05_Aborto_enz_ov_ejas.pdf)

O'NEILL LM, Keane OM, Ross PJ, Nally JE, Seshu J, Markey B. 2019. Evaluation of protective and immune responses following vaccination with recombinant MIP and CPAF from *Chlamydia abortus* as novel vaccines for enzootic abortion of ewes. *Vaccine*. 37(36): 5428–5438. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2019.06.088>

ORTEGA N, Caro MR, Gallego MC, Murcia-Belmonte A, Alvarez D, Del Rio L, Cuello F, Buendia AJ, Salinas J. 2015. Isolation of *Chlamydia abortus* from a laboratory worker diagnosed with atypical pneumonia. *Irish Veterinary Journal*. 69, 8. <https://doi.org/10.1186/s13620-016-0067-4>

PALOMARES REG, Mejía SP, Aguilar RF, De la Cruz CL, Jiménez SH, Leyva CJC, Morales PMI, Díaz AE. 2020. Frecuencia y factores de riesgo asociados a la presencia de *Chlamydia abortus*, en rebaños ovinos en México. *Revista mexicana de ciencias pecuarias*.11(3):783-794. ISSN 2428-6698. <https://doi.org/10.22319/rmcp.v11i3.5269>

PAPP JR, Shewen PE, Gartley CJ.1994. Abortion and subsequent excretion of *Chlamydiae* from the reproductive tract of sheep during estrus. *Infection and Immunity*. 62:3786-3792. PMID: 8063395. <https://iai.asm.org/content/62/9/3786.short>

PICHON N, Guindre L, Laroucau K, Cantaloube M, Nallatamby A, Parreau S. 2020. *Chlamydia abortus* in Pregnant Woman with Acute Respiratory Distress Syndrome. *Emerging Infectious Diseases*. 26(3): 628-629. <https://doi.org/10.3201/eid2603.191417>

RONQUIST F, Teslenko M, van der Mark P, Ayres DL, Darling A, Höhna S, Larget N, Liu L, Suchard MA, Huelsenbeck JP. 2012. MrBayes 3.2: Efficient Bayesian phylogenetic inference and model choice across a large model space. *Systematic Biology*. 61(3): 539-542. <https://doi.org/10.1093/sysbio/sys029>

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>

SCHRADER C, Schielke A, Ellerbroek L, Johne R. 2012. PCR inhibitors - occurrence, properties and removal. *Journal of Applied Microbiology*. 113(5): 1014-1026. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2012.05384.x>

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>

SORIANO VE, Jiménez EJM, Salgado MC, López HM, Escobedo GMR, Guerra IFM. 2011. Identificación de *Chlamydophila abortus* en un aborto ovino en Almoloya de Juárez, México. *Revista electrónica de veterinaria*. 12(11): 1-6. <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=63622049007>

STUEN S, Longbottom D. 2011. Treatment and control of chlamydial and rickettsial infections in sheep and goats. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*. 27(1):213-233. <https://doi.org/10.1016/j.cvfa.2010.10.017>

THEJLS H, Gnarpe J, Gnarpe H, Larsson PG, Platz-Christensen JJ, Ostergaard L, Victor A. 1994. Expanded gold standard in the diagnosis of *Chlamydia trachomatis* in a low prevalence population: diagnostic efficacy of tissue culture, direct immunofluorescence, enzyme immunoassay, PCR and serology. *Genitourinary Medicine*. 70 (5):300-303. <https://sti.bmj.com/content/70/5/300>

URRUTIA MJ, Vera AHR, Villagómez-Amezcuca ME. 2015. "Aborto no infeccioso". In: Díaz-Aparicio E, Tórtora-PÉREZ J, Palomares-Resendiz E, Gutiérrez-Hernández J. Enfermedades de las cabras. Mexico: INIFAP, SAGARPA. ISBN: 978-607-37-0411-3.