

PREVALENCIA DE LA CLAMIDIOSIS OVINA Y CAPRINA EN LA REGIÓN DE MURCIA¹

Prevalence of ovine and caprine chlamydiosis in Murcia Region

Cuello, F., Salinas J.; Caro, M^a R.; Gallego, M^a C.; Sánchez-Gallego, M^a J.; Buendía, A.J.; Bretón, J.

Departamento de Patología Animal. Unidad de Microbiología e Inmunología. Facultad de Veterinaria. Universidad de Murcia

Recibido: 28 Octubre 1992

Aceptado: 25 Diciembre 1992

RESUMEN

Se han analizado 970 muestras de suero sanguíneo de ovinos y 496 de caprinos mediante reacción de fijación del complemento (RFC) e inmunofluorescencia indirecta (IFI) frente a antígeno clamidial, detectándose por RFC un 25,05% de positividad entre los primeros, y un 14,31% entre los segundos. La IFI detecta positividad en todos los sueros con título 1/40 o superior por RFC, y sólo al 52,17% entre los positivos a 1/20. El 50% de los rebaños ovinos y el 16,66 de los caprinos, muestran clamidiosis activa, en el resto, la clamidiosis se manifiesta como infección latente.

Se aíslan cuatro cepas de *C. psittaci*, tipificadas como serotipo 1 mediante anticuerpos monoclonales.

Palabras clave: *Chlamydia psittaci*, Fijación del complemento, Inmunofluorescencia, Infección activa.

SUMMARY

Complement fixation test (CFT) and indirect immunofluorescence test (IFI) with clamidial antigen were carried out with 970 ovine serum samples and 496 caprine serum samples; 25,05% of ovine sera and 14,31 of caprine sera were positives by CFT, the IFI showed positive results in all positive sera by CFT with 1/40 titer or more, and only in 52,17% of sera which were positives at 1/20 dilution by CFT. Active Clamydiosis was presented in the 50% of ovine flocks and in the 16,66% of caprine flocks, in the remains flocks, the clamidial infection appeared as latent infection.

Four Strains of *C. psittaci* were isolated, and typificated as serotipe 1 by monoclonal antibodies.

Key words: *Chlamydia psittaci*, Complement fixation test, Immunofluorescence, Active infection.

1. Este trabajo ha sido subvencionado por la Consejería de Cultura, Educación y Turismo de la Región de Murcia. Proyecto PCT 90/11.

INTRODUCCIÓN

Chlamydia psittaci es una bacteria parásita intracelular obligada, que da lugar a toda una serie de síndromes muy variados, tanto por su sintomatología como por su presentación en gran número de especies animales, tanto mamíferas como aviares (MILON *et al.* 1983). La infección por este microorganismo, en la mayoría de las ocasiones, se establece de forma larvada, dando lugar a presentaciones asintomáticas en virtud del establecimiento de un equilibrio hospedador-parásito, que ocasiona un gran número de infecciones inaparentes (LAGNEAU, 1979), que dan lugar a la presencia de portadores asintomáticos que pueden eliminar el agente infeccioso, y que ante situaciones de estrés, desarrollan un proceso clínico (BLANCO, 1967; BLANCO *et al.* 1979; MILON *et al.* 1983) con importantes pérdidas económicas.

En ovinos y caprinos, la principal manifestación de la clamidiosis es el aborto, "aborto enzoótico" (AITKEN *et al.* 1981), que cuando se presenta en un rebaño como consecuencia de una primoinfección, puede llegar al 25-30% (STORZ, 1966), al 50% (BLANCO, 1967) y hasta el 75% (LAGNEAU, 1979), afectando a hembras de cualquier edad y paridera en estos casos, siendo normal que tras este primer episodio, la tasa de abortos se sitúe en torno al 5%, afectando ahora sólo a las primíparas, aunque se han encontrado (CUELLO, 1979) situaciones con un 10-20% de abortos en rebaños con infección clamidial establecida. Concomitantemente con el aborto es frecuente la mortalidad perinatal (STORZ, 1966; BLANCO, 1967; KRISHNA y RAJYA, 1985), así como la aparición de otros cuadros tales como artritis, queratitis, neumonías (BLANCO, 1967, 1975) y meningoencefalitis (BLANCO, 1969; BLANCO *et al.*, 1977) en el mismo rebaño.

Dada la variedad de formas clínicas de la infección clamidial, y la importancia de los portadores en la transmisión y difusión de la misma, el diagnóstico ha de basarse tanto en la identificación del agente causal del proceso clínico ya establecido, como en la detección de portadores; un tercer aspecto que cabría considerar es que el diagnóstico individual, salvo excepciones (aves

exóticas sospechosas), tiene un valor muy limitado, debiéndose realizar un diagnóstico de colectivo.

El diagnóstico directo pasa por la bacterioscopia de extensiones de material patológico teñidas por Stamp, Macchiavello, Giemsa, o bien por técnicas de inmunofluorescencia, confirmando la etiología precisa mediante el aislamiento de *C. psittaci* sobre saco vitelino de embrión de pollo o sobre líneas celulares (HeLa, McCoy, BHK-21) (HOBSON *et al.*, 1977; HOOD Y McMARTIN, 1985).

En el diagnóstico indirecto la reacción de fijación del complemento (RFC) es la más utilizada en pequeños rumiantes (SAINT-AUBERT *et al.*, 1975), así como las técnicas inmunoenzimáticas (ELISA) (LOMBARD, 1987) y la inmunofluorescencia indirecta (IFI) (SALINAS *et al.*, 1991).

MATERIAL Y MÉTODOS

Se han analizado mediante RFC, un total de 1466 muestras de suero sanguíneo correspondientes a catorce rebaños (ocho ovinos, con 970 muestras y seis caprinos, con 496) de la Región de Murcia, cuya distribución se refleja en los cuadros I y II, lo que supone el 82,16% del censo de los efectivos muestreados. La IFI se realizó sobre los sueros positivos por RFC. Así mismo se han estudiado microbiológicamente ocho casos de aborto ovino (rebaños A y H) y cuatro caprinos (rebaño L).

Para la RFC se ha seguido la microtécnica de SAINT-AUBERT *et al.* (1975), utilizando dos dosis mínimas hemolíticas de complemento en volúmenes de 25 µl, y suspensión de hematíes de carnero al 2%. Se ha empleado tampón veronal (OXOID), tanto para las diluciones de los sueros, dobles a partir de la 1/10, como para la de los demás reactivos. Como antígeno se ha utilizado una suspensión de *C. psittaci* cultivada sobre saco vitelino (VIRION). Se ha tomado como indicativa de infección, la positividad a la dilución 1/20.

Con los sueros positivos por RFC, se ha realizado la IFI según SALINAS *et al.* (1991), empleándose como antígeno un cultivo de células McCoy infectadas con *C. psittaci* AB7 (RODOLAKIS y SOURIAU, 1989). Como para la RFC, se

ha considerado como indicativa de infección, la positividad a partir de la dilución 1/20.

A partir de las envueltas fetales y órganos de los fetos (pulmón, hígado, bazo, abomaso), se realizaron macerados en tampón sacarosa-fosfato-glutamato (BOVARNICK, 1950), y tras centrifugación a 6000 g a 4°C, durante 120 min, y filtrado del sobrenadante por 0,45 µm, se procedió a inoculación de los mismos en saco vitelino de embrión de pollo de siete días de incubación.

RESULTADOS

La RFC detecta anticuerpos fijadores en el 25,05% de los sueros ovinos y en el 14,31% de los caprinos, llegando el título en el primer caso hasta la dilución 1/160 y hasta la 1/80 en el segundo (cuadros 1 y 2).

La IFI, aplicada sobre los sueros positivos por RFC, muestra positividad en el total de los casos en que el título por RFC es de 1/40 o superior, mientras que en los de título 1/20, la IFI sólo se muestra positiva en el 48,27% de los sueros ovinos y en el 56,14% de los caprinos.

Mediante inoculación en embrión de pollo, se han aislado cuatro cepas (tres ovinas y una caprina) de *C. psittaci*, tipificadas como serotipo 1 por IFI con anticuerpos monoclonales específicos, obtenidos tras fusión de células de mieloma no secretor P3 X-16 Ag8653, con linfocitos procedentes de bazo de ratón Balb/c inoculado con la cepa abortiva AB7 de *C. psittaci* (SALINAS *et al.*, 1992).

DISCUSIÓN

El porcentaje de resultados positivos por RFC en ovinos (25,05%), es similar al obtenido por CUELLO (1979) (27,83%), y superior al reseñado por ANDREANI *et al.* (1986) en Italia (19,0%), y al encontrado en Grecia por MANGANA y MASTROYANNI (1986) (14,4%, cuadro 4), posiblemente debido a que el número de muestras por rebaño fue muy elevado (121,25 sueros de media, frente a 25,97 y 18,98 en los casos de Grecia e Italia).

En caprinos, los datos de positividad por la misma técnica, son claramente inferiores a los al-

canzados en ovinos, acercándose a los aportados por los autores mencionados, lo que, junto con el hecho de que sólo en dos muestras se supere el título de 1/40, parece indicar que en esta especie, la respuesta inmunitaria a *C. psittaci* es más baja, hecho que se traduce en que sólo el 14,31 % de los animales muestran niveles de anticuerpos significativos de infección.

La IFI se aplicó con el fin de confirmar los resultados positivos obtenidos por RFC, obteniéndose positividad en todos los casos en los que el título por RFC es de 1/40 o superior, sin embargo sólo el 48,27% de los sueros ovinos y el 56,14 de los caprinos positivos a 1/20, lo son también por IFI, posiblemente debido a que, al objeto de detectar situaciones de infección latente, hemos considerado este título en lugar de la positividad a la dilución 1/40 señalada por CAPPONI (1974) como indicativa de infección.

Salvo en dos casos de rebaños caprinos y en uno ovino, en el resto de rebaños estudiados el grado de prevalencia de la infección clamidial, detectado por las técnicas serológicas utilizadas, supera al 10%, lo que indica que este proceso, al menos en los colectivos muestreados, tiene una notable presencia, si bien cabe pensar en una clamidiosis crónica, dado el bajo porcentaje de títulos séricos superiores a 1/40, y la escasa incidencia de abortos.

Es frecuente entre los rumiantes, la eliminación por heces de *C. psittaci* de origen intestinal (STORZ, 1966) (serotipo 2), de escaso o nulo poder abortigénico, lo que podría contribuir a la elevada seropositividad detectada en los rebaños muestreados, hipótesis que estamos investigando.

Tomando para la RFC, según indican GIAUFFRET y RUSSO (1976, 1982) y RODO-LAKIS y RUSSO (1984), como indicativos de infección clamidial latente los títulos iguales o inferiores a 1/40, y como indicativo de infección activa los de 1/80 o superiores, encontramos (Cuadro 3) que el 21,55% de los sueros ovinos, correspondientes al 50,00% de los rebaños analizados, pueden encuadrarse en la primera categoría, mientras que el 3,50% de los sueros pertenecientes a la otra mitad de los rebaños ovinos, proceden de animales con infección activa.

REBAÑOS	MUESTRAS	PROCEDENCIA	TÍTULOS RFC (Inversa de la dilución)				% Positivos (RFC)	
			20	(IFI)*	40	80		160
A	343	Molina S.	21	(10)	46	11	8	25,07
B	100	Mula	17	(7)	6	0	0	23,00
D	168	Alhama	7	(4)	2	0	0	5,36
F	80	Librilla	13	7	3	0	0	20,00
G	11	Cartagena	0		0	8	0	72,73
H	85	Cartagena	0		53	3	0	65,88
M	126	Santomera	7	(4)	14	0	0	16,67
N	57	Caravaca	13	(8)	7	4	0	42,10
TOTAL	970		78	(40)	131	26	8	25,05
(*) Sueros positivos por IFI. Los sueros positivos por RFC a la dilución 1/40 o superiores, fueron todos positivos también por IFI.								

CUADRO 1. Ovinos. Resultados de la RFC.

REBAÑOS	MUESTRAS	PROCEDENCIA	TÍTULOS RFC (Inversa de la dilución)				% Positivos (RFC)	
			20	(IFI)*	40	80		160
C	138	S. Javier	8	(6)	12	0	0	14,49
E	36	Fortuna	3	(1)	2	0	0	13,89
I	37	Cartagena	0		2	0	0	5,40
J	30	Cartagena	0		3	0	0	10,00
K	59	Lorca	9	(3)	10	0	0	32,20
L	196	F. Álamo	17	(10)	3	2	2	11,22
TOTAL	496		37	(20)	32	2	2	14,31
(*) Sueros positivos por IFI. Los sueros positivos por RFC a la dilución 1/40 o superiores, fueron todos positivos también por IFI.								

CUADRO 2. Caprinos. Resultados de la RFC.

ESPECIE	SUEROS	INFECCIÓN LATENTE*				INFECCIÓN ACTIVA**			
		sueros		rebaños		sueros		rebaños	
		Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%
Ovinos	970	209	21,55	4	50,00	34	3,50	4	50,00
Caprinos	496	69	13,91	5	83,33	2	0,40	1	16,66
TOTAL	1466	278	18,96	9	64,28	36	2,45	5	35,71

(*) Sueros positivos hasta la dilución 1/40.
(**) Sueros positivos a partir de la dilución 1/40.

CUADRO 3. Estado de la infección.

		ANDREANI et al.	MANGANA y MASTROYANNI	CUELLO et al.
OVINOS	SUEROS	19	14,4	25,05
	REBAÑOS	77,3	45,4	100,00
	Inf. latente	N.C.*	23,6	50,00
	Inf. activa	N.C.	21,8	50,00
CAPRINOS	SUEROS	16,4	11,9	14,31
	REBAÑOS	80,0	45,3	100,00
	Inf. latente	N.C.	39,3	83,33
	Inf. activa N.C.	N.C.	6,0	16,66

(*) No consta.

CUADRO 4. Porcentajes de positividad según autores.

Por lo que respecta a los rebaños caprinos, la prevalencia de la infección activa es menor, pues sólo el 0,40% de los sueros, pertenecientes al 16,66% de los rebaños, muestran este carácter, siendo los rebaños en los que la infección clamidial está latente, el 83,33% con el 13,91% de los sueros analizados.

La forma activa de la infección clamidial en pequeños rumiantes suele manifestarse con abortos, de hecho, las cepas de *C. psittaci* aisladas son cepas abortigénicas (serotipo 1) y proceden de rebaños con clamidiosis activa detectada serológicamente.

Los datos obtenidos respecto a la prevalencia de la infección clamidial entre los rebaños muestreados, son claramente superiores a los aportados por MANGANA y MASTROYANNI (1986) en Grecia, pero se acercan a los indicados por ANDREANI (1986) en Italia (cuadro 4), con el 77,3% de rebaños ovinos y el 80% de los caprinos con infección, lo que, a falta de datos más recientes sobre la evolución del proceso en estos países de nuestro entorno mediterráneo, parece indicar una expansión de la clamidiosis ovina hacia nuestra zona, hecho que merece un estudio más profundo, abarcando mayor número de rebaños y zonas de muestreo, con el fin de cuantificar con mayor precisión el grado de prevalencia de la clamidiosis entre la cabaña de pequeños rumiantes del levante y sureste español.

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos al Laboratorio Agrario Regional su colaboración en la remisión de las muestras.

BIBLIOGRAFÍA

- AITKEN I.D., ROBINSON G.W., ANDERSON I.E. 1981. Enzootic abortion: experimental infection. *Proc. Sheep. Soc.* 5: 53-60.
- ANDREANI E., TOCARI F., CERRI D. 1986. Epidemiological observations on chlamydial infection and disease of ruminants in Italy. En: Chlamydial diseases of ruminants, pp. 21-26. Ed.: I.D. AITKEN. Commission of the European Communities. Luxembourg. 162 pp.
- BLANCO LOIZELIER A. 1967. Abortos en ovinos y caprinos por agentes del grupo Psitacosis-Linfogranuloma (*Miyagawanella ovis*). *Rvta. Pat. Biol. Anim.* 9: 35-58.
- BLANCO LOIZELIER A. 1969. Meningoencefalitis en ovinos por agentes del grupo Psitacosis-Linfogranuloma venéreo. *Rvta. Pat. Biol. Anim.* 13: 187-200.
- BLANCO LOIZELIER A. 1975. Estudio sobre la neumonía enzoótica de los corderos. *Ann. INIA/SER. Hig. San. Anim.* 2: 19-35.
- BLANCO LOIZELIER A., MARCOTEGUI JASO M.A., DELGADO CASADO I., GARCIA OBREGON. L.M. 1977. Clamidiosis caprina (Encefalomiелitis clamidial caprina). *Ann. INIA/SER. Hig. San. Anim.* 3:59-103.
- BLANCO LOIZELIER A., MARCOTEGUI JASO M.A., DELGADO I., DE FRUTOS I., ESCRIBANO M.A. 1979. Clamidiosis caprina: infección clamidial crónica. *Ann. INIA/SER. Hig. San. Anim.* 4: 33-44.
- BOVARNICK M.R., MILLER J.C., SNYDER J.C. 1950. The influence of certain salts, amino acids, sugar and proteins on the stability of Rickettsia. *J. Bacteriol.* 59: 509-522.
- CUELLO F. 1979. Contribución al estudio de la clamidiosis ovina en la provincia de Córdoba. Tesis Doctoral, Universidad de Córdoba.
- GIAUFFRET A., RUSSO P. 1976. Enquête sérologique sur la Chlamydie des petits ruminants. Étude de la réaction de fixation du complément. *Rec. Méd. Vét.* 152: 535-541.
- GIAUFFRET A., RUSSO P. 1982. Chlamydioses ovines et caprines. *Bull. Lab. Vét.* 5: 47-51.
- HOBSON D., JOHNSON F.W.A., BYNG R.E. 1977. The growth of the ewe abortion chlamydial agent in McCoy cell culture. *J. Comp. Path.* 87: 155-159.
- HOOD J.W.C., McMARTIN D.A. 1985. Comparative susceptibility of hen eggs and pig lung alveolar macrophages to chlamydial infection. *Vet. Res. Comm.* 9: 135-141.
- KRISHNA L., RAJYA B.S. 1985. Isolation of Chlamydia from cases of perinatal mortality in lambs and kids. *Indian J. Comp. Microbiol. Immunopat. Infect. Dis.* 6: 36-39.
- LAGNEAU F. 1979. Les Chlamydioses des mamières domestiques. *Bull. et Mém. Soc. Méd. Paris* 7: 65-68.

- LOMBARD M., PRECAUSTA P., TIXIER G., CHOMEL B. 1987. The application of the ELISA technique to the serology of chlamydiosis in goats: statistical evaluation of a method. *J. Bio. Stand.* 15: 293-304.
- MANGANA O., MASTROYANNI M. 1986. Enzootic abortion of sheep and goats in Greece. En: Chlamydial diseases of ruminants, pp. 17-20. Ed.: I.D.
- AITKEN. Comission of the European Communities. Luxembourg. 162 pp.
- MILON A., GERAL M.F., PELLERIN J.L., LAUTIE R. 1983. Les Chlamydioses animales. *Revue du Rhumatisme* 50: 727-731.
- RODOLAKIS A., RUSSO P. 1984. Chlamydose abortive caprine. Les Colloques de l'INRA, 28: 133-141.
- RODOLOKIS A., SOURIAU A. 1989. Variations in the virulence of strains of *Chlamydia psittaci* for pregnant ewes. *Vét. Rec.* 125: 87-90.
- SAINT-AUBERT G. DE, FAYET M.T., VALLETTE L. 1975. Micromethode de fixation du complement pour le diagnostic de chlamydioses ovines et applications pratiques. *Rev. Méd. Vet.* 126: 787-800.
- SALINAS J., CUELLO F., CARO M.R., ZAMORA E. 1991. *Chlamydia psittaci*: estudio comparativo de tres antígenos para inmunofluorescencia indirecta. *Med. Vet.* 8: 207-210.
- SALINAS J., SOURIAU A., CUELLO F., RODOLAKIS A. 1992. Antigenic diversity of ruminant *Chlamydia psittaci* strains detected by monoclonal antibodies. Proc. European Soc. Chlam. Res., Stokholm. p. 194.
- STORZ J. 1966. Psittacosis-Lymphogranuloma infection in sheep. Antigenic structures and interrelations of PL agents associated with polyarthritis, enzootic abortion, intrauterine and latent intestinal infections. *J. Comp. Path.* 76: 351-262.