

DIAGNÓSTICO DE CLAMIDIOSIS EN AVES DE LA CIUDAD DE GENERAL PICO, LA PAMPA. ARGENTINA

Baruta, D.A.¹; Ardoino, S.M.¹; Lacolla, D.V.¹; García, M.G.¹; Mariani, E.L.¹; Riesco, S.R.¹; Sosa, R.E.¹;

¹Facultad de Ciencias Veterinarias, UNLPam. Calle 5 y 116. General Pico, La Pampa.

debaruta@infovia.com.ar

Resumen

La clamidiosis, producida por *Chlamydophila psittaci*, es una zooantroponosis que afecta a las aves originando un importante cuadro clínico en el hombre. A los efectos de detectar la presencia de este agente etiológico, se tomaron 120 muestras, consistentes en hisopados conjuntivales de aves psitácidas, en la ciudad de General Pico La Pampa, provenientes de domicilios particulares y comercios destinados a la venta de las mismas. A tal fin se utilizaron técnicas de citodiagnóstico (Giemsa e Inmunofluorescencia directa) como pruebas tamiz, confirmándose mediante la técnica de reacción en cadena de la polimerasa (PCR). Se concluye que la enfermedad está presente en la ciudad.

Palabras Clave: diagnóstico, *Chlamydophila psittaci*, aves, clamidiosis

Abstract

Chlamydiosis is a zooanthroponosis that affects birds, producing important clinical symptoms in human beings. 120 conjunctival secretion samples were taken from psittacid birds of particular houses and pets shop, in General Pico, La Pampa with the purpose of detecting the presence of this etiological agent. To such aim, cell diagnostic techniques (Giemsa and direct Immunofluorescence) were used as first tests, confirming themselves by the Polymerase Chain Reaction (PCR). One concludes that the disease is present in the city.

Key words: diagnosis, *Chlamydophila psittaci*, birds, chlamydiosis

Introducción

La clamidiosis aviar es una enfermedad infectocontagiosa, zooantroponótica, producida por una bacteria gram negativa de vida in-

tracelular obligada, llamada *Chlamydophila psittaci*. Fue descrita por primera vez por Ritter en 1879 en una familia Suiza dedicada a la importación de aves psitácidas (Andersen et al., 1997). En nuestro país diferentes estudios realizados en la ciudad de Buenos Aires describieron la frecuencia de la enfermedad, medida en términos absolutos de números de casos, por la imposibilidad de emplear otras medidas de resumen, al desconocerse la población de aves expuestas y susceptibles existentes en el lugar y tiempo considerados (Molina et al., 2001).

La transmisión se lleva a cabo fundamentalmente por vía aerógena, a través del polvo de las plumas, de las expectoraciones y excrementos de las aves infectadas, ya sean enfermas o portadoras sanas. Los factores predisponentes que favorecen la transmisión de la enfermedad son: cambios de temperatura, falta de higiene, ventilación deficiente, contacto entre aves en cautiverio y salvajes, y en general, cualquier causante de estrés. Las aves más jóvenes son más susceptibles que las adultas. La sintomatología incluye disnea, derame nasal y ocular, cierre de uno o ambos párpados, plumas erizadas, somnolencia, anorexia y diarrea verdosa-grisácea. Cabe destacar que pocas aves presentan una sintomatología clara, por lo que resulta sumamente dificultoso realizar un diagnóstico clínico preciso (Andersen et al., 1997).

Las lesiones asientan principalmente en aparato digestivo y respiratorio. La presentación de la enfermedad puede ser aguda, sub-aguda o crónica. Algunas aves que son portadoras asintomáticas, ante una deficiencia del sistema inmunitario desarrollan la enfermedad clínica (Andersen et al., 1997).

Las aves infectadas se constituyen en la fuente de contacto hacia el hombre (Barboni de Stella et al., 2001). En el hombre la principal



puerta de entrada del agente es por inhalación. La sintomatología clínica incluye neumonía, tos, cansancio, fiebre y dolor de cabeza.

Las muestras de elección en aves para la ejecución de las diferentes pruebas son hisopados conjuntivales, cloacales, faríngeos y coanales (McElnea y Cross, 1999). El diagnóstico de clamidiosis (enfermedad) o clamidiasis (infección) se lleva a cabo en el laboratorio, mediante pruebas de aglutinación de cuerpos elementales (EBA), aglutinación en látex y fijación directa de complemento, pero las variaciones de respuesta individual hacen necesaria la realización de pruebas adicionales tales como ELISA, inmunocromatografía, inmunofluorescencia directa y PCR (Vanrompay et al., 1994; Grimes y Arizmendi, 1996; Van Loock et al., 2005). La confirmación del mismo se efectúa a través de la puesta en evidencia de las clamidias mediante tinciones especiales tales como Giemsa, Giménez, y pruebas inmunológicas. El citodiagnóstico, cuya sensibilidad es del 70% y su especificidad del 90%, es una técnica rápida y económica en una primera etapa diagnóstica (Barboni de Stella et al., 1999).

Distintos trabajos compararon los resultados obtenidos mediante diferentes técnicas de diagnóstico. Sobre 96 aves testeadas, 33 fueron positivas a PCR, 29 de estas a inmunofluorescencia directa y solo 21 a la tinción de Giménez modificada (Celebi y Ak, 2006). Otros autores realizaron trabajos similares obteniéndose concordancia en los resultados (Barboni de Stella et al., 2001).

En la ciudad de General Pico en los últimos años se han presentado casos de clamidiosis en seres humanos, por lo que se decidió hacer un relevamiento de la presencia de dicha enfermedad en aves psitácidas locales, a través de tres técnicas diagnósticas diferentes.

Materiales y Métodos

Se examinaron 120 aves psitácidas domiciliarias y provenientes de lugares de venta, sobre una población total cuyo número es desconocido, ya que se trata de mascotas domésticas. El muestreo se realizó mediante un hisopado ocular, previo lavaje del ojo con solución fisiológica, luego de lo cual se realizaron improntas para el citodiagnóstico con la coloración de Giemsa, para poner en evidencia los cuerpos de inclusión. Las muestras positivas se chequearon mediante inmunofluorescencia directa utilizando el kit comercial Chlamidia direct IF (55321) de BioMérieux, siguiendo las instrucciones indicadas por el fabricante (Barboni de Stella et al., 1999). De igual modo con las muestras positivas a inmunofluorescencia directa, se ejecutó una reacción en cadena de la polimerasa (PCR) para la que se emplearon los oligonucleótidos cebadores específicos para el gen ompA de Chlamydomphila psittaci: CPS1: 5`- ACG CAT GCA AGA CAC TCC TCA AAG CC - 3` y CPS2: 5`- ACG AAT TCCTAG GTT CTG ATA GCG GGA C-3`. La reacción se llevó a cabo en 30 ciclos de 1 segundo a 96°C, 1 minuto a 59°C y 1 minuto a 72°C, con una elongación final a 72°C durante 7 minutos. Los productos se analizaron en geles de agarosa al 1,5% en buffer TBE 0,5X, teñidos con solución de bromuro de etidio (Celebi y Ak, 2006).

Resultados

Sobre un total de 120 muestras procesadas, 12 presentaron positividad a la coloración de Giemsa, de éstas solo 5 resultaron positivas al ser analizadas por inmunofluorescencia directa y una por PCR (Tabla 1).

N° Muestras	Negativas	Positivas		
		Giemsa	Inmunofluorescencia Directa	PCR
120	108			
		12	5	1



Discusión y Conclusiones

De los resultados obtenidos se demuestra la presencia del agente etiológico de la enfermedad en la población de aves psitácidas de la ciudad de General Pico.

La proporción de aves positivas obtenidas de acuerdo con el método de diagnóstico, coinciden con los resultados reportados por otros autores, y concuerdan con lo esperado de acuerdo con la especificidad y sensibilidad de cada uno (Barboni de Stella et al, 1999, Barboni de Stella et al, 2001, Grimes y Arizmendi, 1996).

De los análisis comparativos de las técnicas realizadas en los trabajos mencionados, se deduce que en la actualidad no es posible recomendar la utilización exitosa del citodiagnóstico en aves vivas para la clínica veterinaria privada. En primer lugar resulta compleja la toma de muestras por hisopado conjuntival, no solo por el tamaño del ave, sino también por la poca cantidad de tejido que se puede extraer, sumado al stress que representan dos o tres lavajes oculares. Los extendidos y coloración de Giemsa, en algunos casos deben ser repetidos varias veces para obtener una buena lectura.

Otra circunstancia que dificulta el diagnóstico en el animal vivo es la escasa signología clínica. En algunos casos la sola aparición de una hepatopatía crónica, que si bien podría ser puesta en evidencia con un enzimograma hepático, en la mayoría de los casos hace que se excluya la clamidiasis y que solo se diagnostique en casos fatales.

El kit de inmunofluorescencia utilizado ha sido desarrollado y estandarizado para su uso en clamidiasis humana, donde la muestra presenta un contenido de células muy superior al que podemos obtener de las aves vivas. Esta puede ser una de las causas de variación en el diag-

nóstico. La gran especificidad de este test para la detección de Clamidiasis humana puede llevar a error en la identificación de *Chlamydia psittaci*.

Coincidimos con otros autores (Barboni de Stella et al., 1999) en que las técnicas citológicas pueden resultar una alternativa, pero solo para un diagnóstico presuntivo de Clamidiosis aviar.

En relación al objetivo del presente trabajo, referido a la casuística de clamidiosis en esta localidad, consideramos necesario un mayor relevamiento de aves psitácidas, teniendo en cuenta el actual incremento de locales de venta (pets shop) de mascotas no tradicionales. Además, con el número de aves positivas detectadas, no pareciera ser considerada de importancia la posible transmisión de la enfermedad en forma masiva al ser humano.

Agradecimientos

Los autores agradecen Dr. Marcelo Rodríguez Fermepin, cátedra de Microbiología de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la UBA por su desinteresada colaboración en este trabajo.



Bibliografía

- Andersen, A.A.; Grimes, J.E.; Wyrick, P.B. 1997.** Diseases of poultry. Chlamydiosis (Psitacosis, Ornithosis). Tenth edition. Iowa State University Press. Ames, Iowa, USA. p. 333-349.
- Barboni de Stella, A. M.; Guida, N.; Picos, J. A.; Grimaldi, P.; Moras, E. V. 2001.** Clamidirosis aviar. Comparación de técnicas diagnósticas. *InVet*, 3: 161-164.
- Barboni de Stella, A. M.; Guida, N.; Pozo, O.; Del Rio Alonso, L.; Grimaldi, F.; Moras, E.V. 1999.** Comparación del citodiagnóstico y la prueba de ELISA para la detección de clamidias en aves. *Revista Argentina Microbiología*, 31: 31-32.
- Celebi, B.S.; Ak, S. 2006.** A comparative study to detecting *Chlamydomphila psittaci* in pet birds using isolation in embryonated egg and polimerasa chain reaction. *Avian Diseases*. 50: 489-93.
- Grimes, J.E.; Arizmendi, F. 1996.** Usefulness and limitations of three methods for diagnosing or excluding chlamydiosis in birds. *Journal American Veterinary Medical Association*, 209: 747-750
- Grimes, J.E.; Arizmendi, F.; Carter, C.N.; Sneed, L. 1996.** Diagnostic serologic testing of cage and aviary birds for chlamydiosis and suggested confirmatory testing. *Journal Veterinary Diagnostic Investigation*, 8:38-44.
- McElnea, C.L.; Cross, G.M. 1999.** Methods of detection of *Chlamydia psittaci* in domesticated and wild birds. *Australian Veterinary Journal*, 77: 516-521.
- Molina, J.L.; Iachini, R.J.; Mena Segura, C.A.; Palazzolo, A.E.; Gury Dohmen, F.E. 2001.** Vigilancia epidemiológica de Clamidirosis aviar. Ciudad de Buenos Aires. 1993-1999. *InVet*, 3: 165-170.
- Vanrompay, D.; Van Nerom, A.; Ducatelle, R.; Haesebrouk, F. 1994.** Evaluation of five IMMunoassays for detection of *Chlamydia psittaci* in cloacal and conjunctival specimens from turkeys. *Journal Clinical Microbiology*, 32: 1470-1474
- Van Loock, M.; Verminnen, K.; Messmer, T.; Volckaet, G.; Goddeeris, B.; Vanrompay, D. 2005.** Use of a nested PCR-enzyme immunoassay with an internal control to detect *Chlamydomphila psittaci* in turkeys. *BMC Infectious Disiases* 5:76 Versión electrónica: <http://www.biomedcentral.com/1471-2334/5/76>

