

Evidencia serológica de infección a *Chlamydia psittaci* en ovinos en el Uruguay.

Freyre, A. *, Falcón, J. *, Wilsmore, A.J. **, Bonino, J. ***

RESUMEN

Tres de 107 ovejas procedentes de 7 establecimientos de 6 departamentos del Uruguay presentaron títulos de anticuerpos compatibles con la infección a *Chlamydia psittaci*, cuando se testaron los sueros mediante la técnica de ELISA para esta infección.

El aborto ovino clamidial se diagnostica frecuentemente en países del Reino Unido, por ejemplo. Por ello se aporta además información sobre esta enfermedad desconocida en el ovino en el Uruguay.

Palabras clave: *Chlamydia*, ovinos, aborto.

SUMMARY

Three of 107 ewes from 7 farms of 6 counties of Uruguay had antibody titers indicative of infection with *Chlamydia psittaci*, when their sera were tested with the ELISA reaction for chlamydiosis.

Enzotic abortion of ewes (EAE) is frequently diagnosed in the United Kingdom, for instance. For this reason, information concerning this unknown pathology of sheep in Uruguay is also given.

Key words: *Chlamydia*, sheep, abortion.

INTRODUCCIÓN

En el Uruguay Caffarena et al efectuaron el primer diagnóstico directo de chlamydiosis en 1986, realizado en *Myosipta monachus* (cotorra común) en base a la presencia de síntomas, patología y estudios histopatológicos en parenquima hepático, confirmado mediante el hallazgo de los corpúsculos de Levinthale-Cole-Lillie (LCL) (7). Con anterioridad existió evidencia indirecta de la infección humana en el país por la presencia de anticuerpos específicos (3).

Desde 1986 a 1990 se han confirmado un total de 14 casos humanos, todos vinculados con aves de compañía que ingresaron en consulta a la Facultad de Veterinaria de Montevideo (8).

La primoinfección a *Chlamydia psittaci* inmunotipo 1 (oa Cp) en ovinos causa placentitis necrótica, responsable de abortos tardíos, mortinatos, o el nacimiento de cordeiros débiles, de bajo peso corporal. En los países de habla inglesa, la enfermedad es conocida como "enzootic abortion of ewes" (EAE).

Que la *Chlamydia psittaci* es el agente causal del aborto enzootico de la oveja, fué revelado por Stamp et al en 1950 (17). Con el desarrollo subsecuente de una vacuna por Mc Ewan y Foggia en 1956 (13), la enfermedad ha sido relativamente controlada, porque en 1979 se constató un resurgimiento de la enfermedad en Escocia (12), que se ha sostenido. En un relevamiento de las causas de aborto ovino infeccioso durante los

años 1975 a 1978 en Escocia, el aborto a *Chlamydia* se presentó en el 9 a 22% de los casos, en forma creciente, seguido del aborto a *Toxoplasma* (7 a 14%) (12). En Nueva Zelandia, de 145 abortos de 129 brotes en 1988, 40% fueron debidos a *Campylobacter*, 22% por *Toxoplasma* y 31% por virus; la búsqueda de *Chlamydia* y *Salmonella* fué negativa (14). En India, de 164 muestras de suero de ovejas que habían abortado 1 vez en 1988, 2.4% fueron positivos a *Chlamydia*, 90% a *Brucella*, y 8% a *Toxoplasma* (18). En Alemania, de 1.153 fetos ovinos y placentas examinadas entre 1980 y 1987, la causa de aborto fué *Chlamydia* en el 43% de los casos, *Salmonella* en el 11%, *Coxiella* en 4% y *Listeria* en el 3% de los casos (16). Finalmente, como otro ejemplo,

* Departamento de Parasitología de la Facultad de Veterinaria, A. Lasplaces 1550, Montevideo, Uruguay.

** Department of Animal Health, The Royal Veterinary College, University of London.

*** Secretariado Uruguayo de la Lana y Clínica de Rumiantes y Suiños de la Facultad de Veterinaria, Uruguay.

en Estados Unidos, entre 1983 y 1989, de 1201 fetos abortados que se examinaron, se diagnosticó toxoplasmosis en 17.5%, campylobacteriosis en 10%, clamidiosis en 5% y otras infecciones en el 15% (10).

La infección se disemina casi exclusivamente durante las pariciones a través de la ingestión de agua y pasturas contaminadas con las placentas y los corrimientos vaginales contaminados de ovejas que abortan. El manejo intensivo favorece la infección. Está en duda si se transmite por vía venérea (1). Generalmente una majada adquiere la infección tras la introducción de vientres infectados.

Existe un intervalo entre la infección y el desarrollo de la enfermedad, que puede durar meses. En una primera etapa, el agente se vuelve indemostrable. Durante la gestación, la placenta, más específicamente las células trofoblásticas del epitelio coriónico se infectan por vía hematogéna. Se desarrollan luego lesiones a partir del placentoma hacia las zonas intercotiledonarias y al feto (2, 5). Una oveja puede abortar en la siguiente parición, o en esa misma estación (4).

Posteriormente se desarrolla inmunidad materna, que, en la mayoría de los casos tiene la duración de la vida comercial de la oveja, y previene completamente nuevos abortos a *Chlamydia* (11).

La infección es a menudo inaparente, causando pocos o ningún síntoma hasta que el animal aborta. Concomitantemente con el aborto, se observa elevación de la temperatura a 3°C por arriba de la normal, y vulvitis.

MATERIALES Y MÉTODOS

En una prueba previa en nuestro laboratorio se determinó que utilizando el método del suero en tiras de papel de filtro, el título de anticuerpos anti-*Toxoplasma* de un suero de prueba (1/3200) se mantuvo constante luego de dejar las tiras de papel desecadas a temperatura ambiente 24 horas y 2 y 4 semanas. No se hicieron determinaciones posteriores, porque el lapso de 4 semanas se consideró suficiente para el transporte por correo y análisis de las tiras en Inglaterra.

Se tomaron muestras de sangre aleatoriamente de 7 majadas en 6 departamentos del Uruguay (Tabla 1). Una vez obtenido el suero, se depositaron 50 microlitros en tiras de papel Whatman N°2 de 1 cm. de ancho y 5 cm. de largo, que llevaban escrita la identificación del animal en el otro extremo. Se dejaron secar a temperatura ambiente (20°C) 24 horas; luego se embalaron en bolsas de polietileno y enviaron por correo al Departamento de Salud Animal del Real Colegio Veterinario de la Universidad de Londres.

En ese Departamento, las tiras de papel se dejaron en remojo 2 horas a temperatura ambiente en lcc de suero fisiológico-tampón fosfatos de Sorensen, pH 7.6 con 10% de suero equino. Se practicó con la dilución 1:150 de los sueros, el test de ELISA para anticuerpos anti-*Chlamydia* (9).

Como antígeno se utilizó la cepa BS de *Chlamydia psittaci* aislada de un brote de aborto ovino enzootico en Gran Bretaña (19). El antígeno diluido en tampón bicarbonato 50mM pH 9.5 se adsorbió a placas de microtitulación (Dynatech-M 129A) por incubación a 4°C por la noche. El conjugado anti-IgG ovina de conejo con peroxidasa se diluyó con la misma solución utilizada para los sueros problema, y la incubación en placa fue de 1 hora a 37°C en ambos casos. Luego de cada incubación las placas se lavaron con suero fisiológico-tampón de fosfatos de Sorensen pH 7.6 con 0.05% Tween 20. El sustrato fue ortofenildiamina. Se midió la densidad óptica a 492 nanómetros luego de 15 minutos. Como control se utilizó antígeno preparado a partir de células del mismo cultivo (no infectado) utilizado para la propagación de *Chlamydia psittaci*. Se consideraron reactivos aquellos sueros que tuvieron una lectura de densidad óptica mayor de 0.1 (9).

RESULTADOS

Los resultados se expresan en la tabla N°1. Se observa que se detectó la infección en el 11% de 2 de los 7 establecimientos muestreados, lo que representó el 2,8% de 107 ovejas estudiadas. No se siguió el comportamiento reproductivo de los animales.

DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

El bajo número de sueros reaccionantes en el test de ELISA podría arrojar dudas respecto a su especificidad. Sin embargo, los títulos observados son considerados muy altos. El autor experimentado en la serología de *Chlamydia* en ovinos (A. J. W.), no ha visto títulos más altos de 0.5 en ovinos infectados con el agente, mientras que los apreciados en este estudio, fueron de 0.42, 0.42 y 0.515. Por otra parte, el test no permite distinguir la especie de *Chlamydia*, ya que el antígeno adsorbido sobre las placas es lipopolisacárido, específico del género *Chlamydia*. Además de *C. psittaci* (ovis), la otra especie en ovidos es *C. pecorum*. Esta especie habita el tubo digestivo de ovejas y cabras, pero no es invasiva, y consecuentemente, no es responsable por el alto título observado en los 3 sueros referidos.

Por lo dicho, el diagnóstico serológico de la infección relatado en el presente trabajo, despierta fuertes sospechas de la presencia del agente causal en los ovinos estudiados, máxime considerando que ya se ha constatado en Uruguay en otras especies (7).

Se impone ahora la búsqueda del agente en los casos de aborto ovino, y su demostración directa.

La placentitis es la lesión principal y característica del aborto ovino enzootico: decoloración y necrosis de algunos cotiledones, edema o engrosamiento del tejido intercotiledonario adyacente y un exudado de color rosa sucio que contiene estrías del mismo color. Las placentas de ovejas infectadas que paren corderos vivos normales, presentan lesiones parecidas pero más localizadas. Histológicamente, la lesión de mayor importancia ocurre en el placentoma vascular, aposición íntima de la carúncula del endometrio con el cotiledón coriónico. Las clamidias que alcanzan el placentoma desde la circulación materna se multiplican en las células epiteliales trofoblásticas de las vellosidades coriónicas, en las que forman inclusiones citoplásmicas claramente visibles al microscopio. Estas se pueden observar en frotis por aposición de los cotiledones o del corion afectados,

fijados y teñidos según el procedimiento modificado de Ziehl Neelsen.

Aparecen como corpúsculos rojos sobre un fondo de color azul.

En caso de no disponer de las placentas, pueden hacerse frotis por extensión de exudado vaginal e inclusive a partir del vellón húmedo del cordero. También puede colocarse un trozo del tejido placentario afectado libre de suciedad, en suero fisiológico con 0.1mg de estreptomina por ml (evitar la penicilina), en donde las clamidias sobrevivirán varios días, y enviarlo al laboratorio. En esta muestra se podrán observar los cuerpos de inclusión; también se podrán inocular cultivos celulares (1). Cuando se manipulen materiales que se sospeche puedan contener *Chlamydia psittaci*, deberá tenerse siempre presente que se trata de una zoonosis importante.

La serología, cuando está disponible, es útil para el diagnóstico. Las ovejas infectadas presentan títulos bajos de anticuerpos, pero las ovejas que abortan suelen presentar títulos altos (1).

Cuando aparece un brote, las ovejas que abortan o paren corderos muertos o débiles, deberán ser identifi-

cadas y aisladas del resto hasta que se detenga el corrimiento vaginal (7-10 días). Los fetos abortados, los corderos muertos y las placentas serán recogidos y quemados o enterrados profundamente. Cuando los vientres afectados son pocos, conviene sacrificarlos porque, aún cuando la gran mayoría queda inmune, y por lo tanto sus sucesivas gestaciones serán normales, constituye una continua fuente de infección. Por el contrario, cuando la infección fué muy extendida, puede ser práctico conservar a la ovejas que han abortado (1).

Para el caso de una cabaña, la aplicación de dos dosis de 20mg/kg de oxitetraciclina de acción retardada, separadas 15 días, da lugar al nacimiento de mayor número de corderos vivos (1).

En los países donde se comercializan vacunas inactivadas contra el aborto ovino enzoótico, estas pueden prevenir los abortos, pero no eliminan la infección completamente. Podría ser que algunas cepas de *C. psittaci* eludiera la inmunidad vaccinal, actualmente (1).

Tabla 1 Detección de anticuerpos anti-*Chlamydia psittaci* en ovejas mediante la técnica de ELISA. Uruguay. 1997

Departamento	Nº Ovejas testadas	Nº ovejas reactivas
Río Negro	20	0
Canelones	10	0
Maldonado	20	0
Maldonado (1)	18	2
Tacuarembó	9	1
Florida	20	0
Paysandú	10	0
Total	107	3 (2,8%)

(1) Otro establecimiento diferente.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. AITKEN, Y. D. (1983). Aborto enzoótico (clamydial pp. 129-134. In: W.B. Martín. Enfermedades de la oveja. Ed. Acribia, Zaragoza, España. 307 p.
2. AMIN, J.D. and A.J. WILSMORE (1994). Studies on the early phase of the pathogenesis of ovine enzootic abortion in the non-pregnant ewe. *British Veterinary Journal* 151, 141-155.
3. BAUZÁ, C.A. et al. (1970). Evolución de la participación de 19 agentes infecciosos no bacterianos en la etiología de infecciones respiratorias agudas en el niño. *Arch. Pediat. Uruguay*. 41: 102-106.
4. BLEWETT D. A. et al. (1982). Ovine enzootic abortion. The acquisition of infection and consequent abortion within a single lambing season. *Veterinary Record* 111: 499-501.
5. BUXTON, D. et al. (1990). Observations on the pathogenesis of *Chlamydia psittaci* infection of pregnant sheep. *Journal of Comparative Pathology* 102, 221-37.
6. CAFFARENA, R.M. et al. (1986). *Chlamydia*. Revisión del tema a propósito del primer diagnóstico aviar en el Uruguay. *Importancia económica en otras especies. Laboratorio Santa Elena, Boletín Técnico*, Agosto 1986. pp 11. Montevideo, Uruguay.
7. CAFFARENA, (1987). R.M. Et al. *Chlamydiosis: confirmación diagnóstica en el Uruguay*. *Vet. Arg. IV*, 34: 326-330.
8. CAFFARENA, R. M et al. (1990). Consideraciones sobre chlamydiosis en Uruguay y su importancia como zoonosis. *Veterinaria*, 26 (107): 13.
9. DAWSON, M., VENABLES, C. AND WILSMORE, (1986). A. J. Immune response of sheep experimentally infected with ovine abortion isolates of *Chlamydia psittaci*. In: *Agriculture. Chlamydial diseases of ruminants*. (Ed. I.D. Aitken) *Proceedings of CEC seminar, Brussels 11 and 12 June, 1985*, pp. 97-105.
10. DUBEY, J.P. and KIRKBRIDE, C.A. (1990). *Toxoplasmosis and other causes of abortions in sheep from north central United States*. *JAVMA*, 196: 2, 287-290.
11. JONES, G. E. (1995). *Chlamydia psittaci: Prevailing problems in pathogenesis*. *Br. Vet. J.* 151, 115.
12. LINKLATER, A. and D.A. DYSON. (1979). *Field studies on enzootic abortion of ewes in south east Scotland*. *The Veterinary Record*, 105, 387-389.
13. MCEWAN, A.D. and FOGGIA, A. (1956). *Prolonged Immunity Following the injection of Adjuvant Vaccine*. *Vet. Rec.* 68, 686.
14. ORR, M. B. (1989). *Sheep abortions*. *Invermay (New Zealand) 1988. Surveillance*, Wellington, 16: 24-25.
15. PAPP, J.R. and P.E. SHEWEN. (1996). *Localization of Chronic Chlamydia psittaci Infection in the Reproductive Tract of Sheep*. *The Journal of Infectious Diseases*, 174: 1296-1302.
16. PLAGEMANN, O. (1989). *The most frequent infections causes of abortion in sheep in northern Bavaria with particular reference to Chlamydia and Salmonella infections*. *Tierärztliche, Praxis, German*. 17: 2, 145-148.
17. STAMP, J.T., MCEWAN, A. D. WATT, J.A. A. AND NISBET, (1950). *D.I. Enzootic Abortion in ewes*. *Vet. Rec.*, 62, 251.
18. VERMA, S.P. BHARDWAJ, R.M. and GAUTAM, O. P. (1988). *Seroprevalence of Toxoplasma antibodies in aborted ewes*. *Indian Journal of Veterinary Medicine*. 8: 2, 132-133.
19. WILSMORE, A. J., PARSONS, V. AND DAWSON, M. (1984). *Experiments to demonstrate routes of transmission of ovine enzootic abortion*. *British Veterinary Journal*, 140, 380-391.