

CONTRIBUCIÓN AL ESTUDIO DE CLAMIDIASIS FELINA EN GATOS
DOMÉSTICOS DE LA CIUDAD DE SANTIAGO

CONTRIBUTION TO THE STUDY OF FELINE CHLAMYDIASIS IN DOMESTIC CATS
IN SANTIAGO CITY

LILIANA MAIER M. V.MSc(C); CARLOS GONZÁLEZ (M. V., M. S., PhD); ALFONSO COURT, M. V. y ALEX GARCÍA*

SUMMARY

The presence of Chlamydiae strains as a pathogenic agent in feline conjunctivitis was studied in samples obtained from 40 cats.

About 50% of the samples were positive to Chlamydia psittaci using the immunofluorescence method which seems to be an adequate technique.

The most common pathogens associated with the ocular infection were Staphylococcus sp (44%), Streptococcus sp (29%) and Pseudomonas aeruginosa (10%).

The zoonotic condition of Chlamydia psittaci is important as a public health matter and because of this, the cat vaccination is highly recommended.

KEY WORDS: *Chlamydia feline, conjunctivitis.*

INTRODUCCIÓN

La clamidiasis felina es una importante enfermedad infecciosa que afecta a los gatos domésticos, cuyo agente etiológico es la *Chlamydia psittaci*, bacteria intracelular obligada, incapaz de obtener energía mediante actividades metabólicas (Bibers-stein, 1994).

Esta enfermedad también es conocida como "pneumonitis felina", a pesar de que rara vez produce neumonía en gatos, caracterizándose en cambio por producir una conjuntivitis persistente, que generalmente se complica con agentes patógenos secundarios (Wills & Gaskell, 1990, Merck, 1993), teniendo las cepas de *Chlamydia psittaci* felina especial predilección por las células epiteliales de la conjuntiva (Dorin y col., 1993).

La transmisión es principalmente de tipo horizontal y ocurre al tomar contacto con cuerpos elementales contenidos en las secreciones oculonasales (Hoover, 1987), ya sea por inhalación o por inges-

tión de material infeccioso proveniente de portadores sintomáticos o asintomáticos (Dorin y col., 1993). La transmisión a través de fomites es menos común (Elston y col., 1998).

La clamidiasis felina es parte del denominado "Complejo infeccioso de las vías respiratorias superiores de los felinos", que incluye principalmente enfermedades como la rinotraqueítis, infecciones por micoplasmas y calicivirus (Sherding, 1996).

En la actualidad es reconocido que *Chlamydia psittaci* es un importante agente infeccioso en gatos, considerándose un patógeno ocular primario, causante de más del 30% de los casos de conjuntivitis felina en un país como, por ejemplo, Inglaterra (Gunn-Moore, 1995).

El tratamiento es eficaz y de buen pronóstico en la mayoría de los casos, aunque hay que señalar que existe cierta tendencia a la cronicidad y suelen producirse recaídas debido a que la inmunidad que queda tras haber cursado la enfermedad es relativamente pobre (Greene, 1993).

Existen también algunas consideraciones de salud pública en relación a que la conjuntivitis clamidial felina es considerada como una enfermedad zoonótica. Algunos informes al respecto establecen que *C. psittaci* sería también el origen de algunos

* Escuela de Medicina Veterinaria Universidad de Chile y Escuela de Medicina Veterinaria Universidad Santo Tomás, Santiago, Chile.

cuadros de conjuntivitis en el ser humano y probablemente también de infección sistémica, por la inhalación de polvo procedente de heces desecadas (Wills & Gaskell, 1990; Lipman y *col.*, 1994).

En relación a lo anterior conviene agregar que existe actualmente una vacuna disponible en algunos países, como Estados Unidos y Argentina, entre otros, que puede ser aplicada como producto monovalente o en combinación con la vacuna de la rinotraqueítis felina, infección por calicivirus y panleucopenia felina, la que ha demostrado ser bastante efectiva (Sherding, 1996).

La clamidiasis de las aves (ornitosis) o psitacosis afecta a distintas aves como pericos, loros, pavos, etc., adquiriendo gran importancia en estos animales desde el punto de vista económico. Los primeros síntomas son anorexia, pérdida de peso, disminución de la postura y eliminación de excrementos amarillo verdoso de consistencia gelatinosa, entre los signos más relevantes. El porcentaje de morbilidad fluctúa entre un 5 y un 80% con una tasa de mortalidad entre un 1 y un 30% (Biberstein, 1994).

El estudio que a continuación se describe pretende contribuir a aumentar el conocimiento de esta patología, de manera de mejorar el diagnóstico y la asertividad en su tratamiento.

MATERIAL Y MÉTODO

En el presente estudio se investigó la presencia de *Chlamydia psittaci* en una muestra de 40 gatos con un cuadro de conjuntivitis clínica, utilizando citología convencional e inmunodetección con anticuerpos monoclonales. Además se estudió el exudado inflamatorio y se aislaron e identificaron los agentes bacterianos asociados como agentes secundarios.

El presente ensayo se realizó en la ciudad de Santiago entre los meses de mayo y septiembre de 1998, mostrándose un total de 40 gatos correspondientes a 30 hembras y 10 machos albergados en la Sociedad Protectora de Animales; por lo anterior, los animales tenían distinta procedencia, y edades que fluctuaban entre los 15 días y los 4 años. Como último requisito los animales no debían haber estado bajo los efectos de un tratamiento antibiótico previo a la toma de muestra.

De los felinos en estudio 23 de ellos presentaban conjuntivitis unilateral y 17 bilateral, con características de purulenta en 27 de los casos y no purulenta en 13 de ellos.

Las muestras procedentes de animales afectados por conjuntivitis fueron preparadas para 3 tipos de análisis. El primero un frotis directo para la detección de cuerpos de inclusión y el análisis citológico del componente inflamatorio conjuntival.

Luego una segunda muestra se incubó para examen microbiológico, y por último una tercera muestra se utilizó para el examen de inmunofluorescencia indirecta con anticuerpos monoclonales.

Todas las muestras fueron obtenidas a través de raspado de mucosa conjuntival mediante el uso de una pequeña espátula y en condiciones de asepsia. (Smith y *col.*, 1997; Friedman, 1997).

Para la detección de cuerpos de inclusión se utilizó la tinción de Giemsa previa hidratación de los frotis en suero fisiológico. En las muestras positivas se observó la presencia de cuerpos de inclusión, los que aparecen teñidos de color azul oscuro en el citoplasma de la célula parasitada (Wills & Gaskell, 1990; Clerc & LaForge, 1995).

Los mismos frotis teñidos para la detección de cuerpos de inclusión se utilizaron para hacer el análisis citológico del componente inflamatorio presente en la mucosa conjuntival, efectuándose recuento leucocitario diferencial, utilizando microscopía de luz, determinando porcentaje de distribución de polimorfonucleares (neutrófilos, linfocitos, macrófagos, basófilos y eosinófilos) de un total de 200 células por frotis (Hoover, 1987).

Los restantes 40 frotis mantenidos para su conservación a -70° C fueron hidratados y bloqueados en PBS más 0,1% de B.S.A (albúmina sérica bovina, producto Sigma, más 0.05% de tween 20 Sigma USA) los que se incubaron en una dilución de 1:1000 en anticuerpos monoclonales anti-*Chlamydia psittaci* de rata por 45 minutos a temperatura ambiente, para luego ser lavados en solución PBS tres veces consecutivas con la finalidad de retirar los anticuerpos no reaccionantes.

Posteriormente los frotis fueron incubados en una dilución de 1:150 de anticuerpos anti Ig de rata, conjugado con F:I:T:C por 30 minutos a temperatura ambiente. Más adelante fueron lavados en P.B.S tres veces consecutivas, para luego ser montados con una gota de P.B.S 10% glicerol.

Finalmente los frotis fueron conservados en oscuridad y refrigeración. La observación de reactividad inmunofluorescente se realizó bajo microscopía de luz ultravioleta. La reacción positiva fue medida por la aparición de fluorescencia de espectro verde.

Complementariamente a la prueba de inmunofluorescencia indirecta se realizó la técnica de inmunofosfatasa alcalina en frotis seleccionados y que eran positivos a *Chlamydia psittaci* según el método de inmunofluorescencia indirecta.

Para detectar los antígenos clamidiales se utilizó el anticuerpo monoclonal de rata anti-*Chlamydia psittaci* (ANAWA de procedencia suiza) en frotis conjuntivales fijados en acetona fría por 5 minutos. Éstos se lavaron dos veces durante 10 minutos cada vez, en buffer tris salino y una vez por 10 minutos en buffer bloqueador para fosfatasa alcalina.

Más adelante los frotis se incubaron en 50 μ l con el anticuerpo monoclonal primario por una hora a temperatura ambiente. Se usaron controles negativos para la reacción inmunohistoquímica mediante la incubación de los frotis con suero normal de rata en lugar del anticuerpo monoclonal.

En seguida los frotis se lavaron tres veces por cinco minutos cada vez con solución buffer tris/ salino, para posteriormente incubar por 30 minutos con 50 μ l de IgG de burro anti IgG de rata conjugada con fosfatasa alcalina en dilución 1:200, en solución salina. Las muestras fueron lavadas y se les agregó 100 μ l de solución sustrato para fosfatasa alcalina y fueron alejadas de la luz por 5 minutos para permitir la reacción. Para detener este proceso se lavó con solución tris/ salina por 2 minutos y luego con agua destilada por otros dos minutos y se contratiñeron los núcleos con Verde de Metilo al 0,5% en solución acuosa, por 30 segundos.

Finalmente se montaron los frotis con gelatina en fase líquida a 60° C y se dejó solidificar a temperatura ambiente. Por último se procedió a analizar las preparaciones en microscopio de luz. La reacción positiva se visualizó por la aparición de un color rojo oscuro.

Para el examen bacteriológico las muestras clínicas se suspendieron en suero fisiológico y se sembraron en medios enriquecidos como agar sangre ovina desfibrinada; luego de la identificación de colonias y tinción de gram se traspasaron las colonias a medios selectivos y finalmente diferenciales donde se observaron las reacciones bioquímicas características para el género, complementándose con pruebas enzimáticas y reacciones sobre una amplia batería de azúcares, incubando siempre una placa control.

Para asegurar las condiciones de esterilidad esta etapa del trabajo se realizó bajo cámara de flujo laminar.

Al analizar los resultados se determinó que 17 muestras de un total de 40 resultaron positivas a

cuerpos de inclusión de origen clamidial, representando un 42,5% de la población felina estudiada.

Utilizando, en cambio, la técnica de inmunofluorescencia indirecta, se determinó un 50% de positividad, lo que equivale a un total de 20 muestras con inmunorreactividad positiva.

Comparando ambas técnicas entre sí se observa una diferencia de un 7,5% atribuyéndose dicha diferencia a una subestimación de tres muestras informadas como negativas a la prueba de determinación de cuerpos de inclusión. Con lo anterior se concluye un mayor grado de sensibilidad para la detección de este patógeno a través de la prueba de inmunofluorescencia indirecta. La menor sensibilidad de la primera prueba puede atribuirse a que los cuerpos de inclusión intracitoplasmáticos disminuyen considerablemente en cuadros tendientes a la cronicidad.

En la prueba confirmatoria de la Fosfatasa alcalina los resultados son semejantes a los de la inmunofluorescencia, con la ventaja que esta última técnica permite observar las muestras mediante tinciones diferenciales que pueden ser observadas a microscopia de luz corriente.

En relación a la flora bacteriana asociada a la infección clamidial se observa un alto predominio de microorganismos gram positivos, que representan el 78% de las muestras analizadas, seguidas por las infecciones mixtas, constituidas por ambos tipos celulares (12%) y finalmente las infecciones provocadas por bacterias gram negativas representando sólo un 10% del universo estudiado.

En orden de importancia los géneros bacterianos más frecuentemente aislados fueron: *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Pseudomonas*, *Micrococcus*, *Corynebacterium*, *Moraxella* y *Proteus*, destacándose dentro de los *Staphylococcus* la especie epidermitis como la más frecuente. Esta bacteria se caracteriza por ser un microorganismo saprófito, comensalista, cuyo hábitat normal es piel y mucosas.

Las conclusiones más importantes que se pueden resumir a partir del presente estudio son:

El microorganismo *Chlamydia psittaci* es un agente primario causante de conjuntivitis felina. El 50% de los animales con conjuntivitis, muestreados en el presente estudio, resultaron ser positivos a infección clamidial.

De las técnicas diagnósticas utilizadas para determinar presencia de *Chlamydia psittaci*, la inmunofluorescencia indirecta demostró ser la más sensible.

Tanto en animales positivos como negativos a infección clamidial los géneros bacterianos más frecuentemente aislados correspondieron a *Staphylococcus*, *Streptococcus*, y *Pseudomonas* en orden decreciente de importancia. Sin embargo en los dos casos en que se aisló *Moraxella* sp, es probable que éste haya sido el agente etiológico primario de la infección, ya que no se observó presencia de *Chlamydia* en estos casos.

El análisis citológico mostró un predominio de neutrófilos, y un aumento en el número de linfocitos y monocitos, sin existir diferencias significativas entre los casos positivos y negativos, de manera que esta técnica no tendría mayor relevancia en el diagnóstico de este microorganismo.

Finalmente resulta importante destacar que *Chlamydia psittaci* es un agente zoonótico presente en algunos animales domésticos muy cercanos al hombre, y por lo tanto representa siempre un riesgo potencial de salud pública, por lo que se sugiere mayores estudios en el tema, como asimismo valorar la posibilidad de importación de la vacuna para ser incorporada en el calendario de inmunizaciones rutinarias de la especie felina.

BIBLIOGRAFÍA

- BIBERSTEIN, E. L. 1994. *Clamidias*. En: Biberstein & Yuan Chung Zee. Tratado de microbiología veterinaria. Editorial Acribia. Zaragoza, pp. 251-256.
- DORIN, S. E. y col., 1993. Diagnosis and treating chlamydial conjunctivitis in cats. En *Veterinary Medicine*, 1993. 88, 322-330.
- ELSTON, T. y col., 1998. Report of the American Association of Feline Practitioners and Academy of Feline Medicine Advisory Panel on Feline Vaccines. En: *JAVMA*, 1998, 212,227-241.
- GREENE, C. E. 1993. *Infecciones por clamidias*. En: Greene, C. E. 1993. Enfermedades infecciosas. Ed. Nueva Editorial Interamericana. México, pp. 466-469
- GUNN MOORE, D. A. 1995. Prevalence of *Chlamydia psittaci* antibodies in healthy pet cats in Britain. En: *The Veterinary Record*, 1995, 136, 366-367.
- HOOVER, E. 1987. *Viral respiratory Diseases and Chlamydia*. En: Holzworth, 1987, Diseases of the cats. Editorial W.B. Saunders Company, Philadelphia, pp. 214-237.
- LIPMAN, N. S. y col., 1994. *Probable transmission of Chlamydia psittaci from a macaw to a cat*. En: *JAVMA*, 1994, 204, 1479-1480.
- MANUAL CLÍNICO DE PEQUEÑAS ESPECIES. Editorial Mc Graw-Hill Interamericana Editores. Atlanta.
- MERCK, 1993. *Manual Merck de Veterinaria*. Océano Grupo Editorial S. A., Barcelona, pp. 348-349.
- SHERDING, R. 1996. *Complejo de enfermedades respiratorias infecciosas de los felinos: Virus del herpes, calicivirus y Chlamydia*. En: Birchard, S. 6 Sherding, R. 1996.
- WILLS; J & GASKELL, R. M. 1990. *Clamidiiasis felina*. En: Chandler, E. A. & Hilbery, A. D. 1990. Medicina y Terapéutica felinas. Editorial Acribia. Zaragoza, pp. 347-351.