

47
2ej



Universidad Nacional Autónoma de México

Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia

**PAPEL ETIOLOGICO DE Chlamydia psittaci
EN LA QUERATOCONJUNTIVITIS
INFECCIOSA OVINA EN C.O.P.E.A.**

T E S I S

Que para obtener el título de:
MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

P r e s e n t a :

HILEL DANIELS FINE

**Asesores: M.V.Z. Jorge Pérez Martínez
M.V.Z. Jesús Romero Martínez**

México, D. F.

1987



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

CONTENIDO

	<u>Página</u>
RESUMEN	1
INTRODUCCION	2
MATERIAL Y METODOS	20
RESULTADOS	23
DISCUSION	25
LITERATURA CITADA	28
CUADROS	31

LISTA DE CUADROS

	<u>Página</u>
CUADRO 1 Apreciación cualitativa y cuantitativa de los elementos relevantes, hallados en la citología exfoliativa	31
CUADRO 2 Hallazgos "significativos" en la citología exfoliativa de corderos con Q.C.I.O.....	32
CUADRO 3 Hallazgos de formas parecidas a cuerpos elementales en embriones de pollo inoculados con material clínico	33
CUADRO 4 Porcentaje de embriones de pollo con cambios patológicos que mostraron formas similares a <u>Chlamydia</u> en improntas de saco vitelino	34
CUADRO 5 Seguimiento de los pases semiciegos de la muestra 4311 - OD	35

RESUMEN

DANIELS FINE, HILEL. Papel etiológico de Chlamydia psittaci en la Queratoconjuntivitis Infecciosa Ovina en México (bajo la dirección de Jorge Pérez Martínez y Jesus Romero Martínez).

Se intentó el aislamiento de Chlamydia psittaci a partir de Q.C.I.O. con el objeto de contribuir al esclarecimiento de la etiología de la enfermedad. Se realizaron 37 improntas de conjuntiva enferma que fueron teñidas por la técnica de Giemsa para la identificación de inclusiones citoplásmicas de clamidia y para la evaluación de los tipos celulares y formas bacterianas. Asimismo se tomaron muestras con la finalidad de cultivar clamidias mediante la inoculación de embriones de pollo de 7 días de edad por la vía del saco vitelino. Los embriones que murieron después de 3 días de edad fueron cosechados y de aquellos que mostraron lesiones sugestivas de infección por clamidia se realizaron improntas de saco vitelino, para ser teñidas por el método de Gimenez y buscar la presencia de cuerpos elementales. En las improntas de conjuntiva se hallaron cantidades significativas de polimorfonucleares, cocos y formas parecidas a clamidia. La identidad de estas últimas estructuras permanece incierta. Del total de las muestras estudiadas mediante la tinción de Giemsa, solo 1 (2.5%) fue positiva a la presencia de inclusiones citoplásmicas que corresponde al 5% de los animales muestreados. De las 37 muestras inoculadas en embriones, 13 (35%) fueron positivas a la presencia de formas similares de clamidia y correspondieron a 10 (53%) de los animales muestreados. La infectividad de las muestras no pudo incrementarse aún después de 3 pases semiciegos y fue el impedimento para el aislamiento de

una cepa. El papel etiológico de clamidia en Q.C.I.O. en México no pudo establecerse totalmente.

INTRODUCCION

Queratoconjuntivitis Infecciosa Ovina

Definición : La Queratoconjuntivitis Infecciosa Ovina (Q.C.I.O.) es una enfermedad infectocontagiosa, caracterizada por conjuntivitis y queratitis que se encuentra distribuida a nivel mundial y cuya etiología por el momento es incierta.

Importancia : La Q.C.I.O. es una enfermedad que provoca una pérdida en el peso vivo del animal y una disminución en la frecuencia de los partos gemelares. Esto, aunado a los costos en la labor y medicamentos empleados para combatirla, redunda en pérdidas económicas significativas (2,4,6).

El padecimiento es de carácter endémico y casi no existe lugar en donde se explote la industria ovina que no presente este problema, lo cual justifica los esfuerzos y recursos invertidos en su investigación. Por otro lado desde los puntos de vista clínico y epizootiológico es importante tener el conocimiento de la enfermedad, debido a que esto conducirá a un diagnóstico más preciso así como a una forma de prevención, control y tratamiento más efectiva. Es así como el intento de determinar la etiología de la Q.C.I.O. constituye una contribución para el mejoramiento de los aspectos económicos, clínicos, epizootiológicos y científicos que esta enfermedad representa.

En México, hasta el momento no se ha estudiado debidamente este padecimiento, siendo este trabajo el primero en investigar el papel etiológico de Chlamydia psittaci en la Q.C.I.O.

La Q.C.I.O. es una enfermedad cuya etiología es compleja siendo este el motivo de la confusión que el padecimiento presenta actualmente y por lo que por el momento no es posible dilucidar la naturaleza de esta enfermedad en forma precisa. El tema que a continuación se expone hace énfasis a la Q.C.I.O. en la cual se ha demostrado la participación de C.

psittaci como agente etiológico primario de la enfermedad, mencionando a su vez los casos de Q.C.I.O. producidos por otros agentes cuando esto resulte pertinente.

Historia :

Rickettsia : Las Queratoconjuntivitis Infecciosas de bovinos, ovinos y caprinos fueron estudiados por Coles en Sudafrica en el año 1931 en las cuales formas de agentes rickettsiales fueron descritas. El cultivo y aislamiento de estas rickettsias causantes de Queratoconjuntivitis Infecciosa nunca tuvieron éxito; sin embargo fueron clasificadas como Colesiotea conjuntivae (1,4,5,9,11,12,17). Con la nueva información proveniente de Sudáfrica, científicos de otros países estudiaron epizootias locales de Q.C.I.O. y encontraron los mismos tipos morfológicos de organismos, los cuales fueron clasificados como Rickettsia conjuntivae (5,9,13,17). La tesis de que Rickettsia es la causante de la Q.C.I.O. ha sido apoyada en los últimos tiempos por Pavlov et. al. 1964 (10), Leafiang et. al. 1969 (10) y Osuagvuh et. al 1979 (16).

Chlamydia : Dickinson y Cooper en 1959 estudiando Q.C.I.O. natural e inducida descubrieron cuerpos elementales y cuerpos reticulados y sugirieron que el agente causal era una Chlamydia. No tuvieron éxito en el aislamiento del agente y basaron sus conclusiones en el tratamiento quimioterapéutico de la infección (5,9,11,17). Microorganismos del género Chlamydia fueron cultivados subsiguientemente en embriones de pollo a partir de muestras de conjuntiva tomadas de ovinos afectados en los Estados Unidos de Norteamérica (5,9). Muestras sanguíneas de estos mismos animales demostraron la presencia de títulos significativos de anticuerpos mediante fijación de complemento. Esto fue confirmado por estudios hechos en Australia, Nueva Zelanda y Sudáfrica por Cooper en 1974 (5), Pienaar y Schutte en 1975 (5) y Surman en 1979 (5,20,21) respectivamente. A la enfermedad producida

por clamidia se le ha llamado Queratoconjuntivitis folicular (9).

Mycoplasma : Estos han sido aislados de casos de Q.C.I.O. en Suiza por Leach en 1970 y Nicolet et. al. en 1974 (10); en Canadá por Langford en 1971 (13); en Australia por Surman en 1968 y 1973 (20,21), Spradbrow y Marley en 1971 (17) y Carmichel et. al. en 1972 (10); en E.U.A. por Barile et. al. en 1972 (2) y Cello en 1967 (6); y en Escocia por Jones et. al. (10). Barile et. al. nombró al micoplasma por él aislado, como Mycoplasma conjuntivae e identificó las cepas previamente aisladas por Surman y Langford como Mycoplasma conjuntivae y Mycoplasma arginini. Los otros aislamientos ya mencionados fueron identificados a su vez como micoplasmas de las 2 especies anteriormente citadas además del Mycoplasma ovinopneumoniae (2). A este padecimiento se le ha llamado Queratoconjuntivitis no folicular cuando Mycoplasma conjuntivae ha podido ser comprobado como el agente etiológico primario (2).

Moraxella : El aislamiento de esta bacteria de borregos con y sin Q.C.I.O. fue reportado por Baker et. al. en 1965 y por Wood et al. en el mismo año. Sin embargo, estudios experimentales llevaron a Wood a la conclusión que los aislamientos no tenían relación alguna con la enfermedad (10). A pesar de lo anterior, Moreno y colaboradores reconocieron en 1968 como único agente causal a la Moraxella bovis en el trabajo de investigación que sobre Q.C.I.O. ellos realizaron (15). En 1969 Vernimb aisló Moraxella bovis de casos de Q.C.I.O. y reproduce el padecimiento (23).

Branhamella : Branhamella ovis cuyo nombre anterior fue Neisseria ovis fue aislada por primera ocasión de casos de Q.C.I.O. por Lindqvist en 1960 (14). Hallazgos subsecuentes han sido realizados por Fairlie en 1966 (14) Spradbrow en 1968 y 1971 (17), Kjolleberg en 1971 (10) y Nicollet et. al. en 1974 (10). A pesar de que los autores anteriores consideraron como poco probable que esta bacteria fuera el agente etiológico de la enfermedad

Moreno y colaboradores tuvieron bases firmes para considerar esta bacteria como agente etiológico primario de un caso de Q.C.I.O. por ellos estudiado (14).

Epizootiología : La Q.C.I.O. ocurre en todas las razas, sexos y edades de los borregos, pero los animales lactantes y de engorda son los que tienen la mayor incidencia (3,9,16). Los brotes se observan comúnmente durante la época de lactancia, cuando las madres y los corderos se mantienen juntos en áreas, con una máxima oportunidad de contacto (6). La mayor frecuencia se observa también durante los meses cálidos del verano y en tiempo seco y polvoso, que es incluso cuando la población de moscas, que actúan como agentes mecánicos de transmisión es más elevada (3,4,9). El padecimiento se transmite indirectamente por moscas, pastos muy crecidos, polvo contaminado por lágrimas de animales infectados, por aerosoles o directamente por medio de contacto físico. El hacinamiento contribuye a la presentación de la enfermedad. La propagación suele ser rápida en el rebaño (1,3,9,11,15,16). La morbilidad varía de acuerdo con las condiciones estacionales, regiones geográficas y tipo de explotación, fluctuando de 1% hasta 100% (3,9,10,11,19). La inmunidad se presenta de corta duración y se ha encontrado que animales que han tenido la enfermedad en un momento determinado, han desarrollado el padecimiento nuevamente en los años subsiguientes (3,6,9). Los animales que han sufrido del padecimiento son portadores asintomáticos y actúan como fuente de reinfección en años sucesivos (1,3,21). En el caso de la Q.C.I.O. producida por clamidias, debido a que los cuerpos elementales pueden sobrevivir por un largo período de tiempo bajo condiciones favorables, la reintroducción de ovinos susceptibles dentro de áreas o establos infectados puede causar nuevos brotes (4). Este padecimiento se halla ampliamente distribuido en la mayoría de los países donde la industria ovina ha sido desarrollada. Las áreas endémicas cono-

cidas son : Argelia, Kenia, Nigeria, Sudáfrica, Sudán, Tunes, Argentina, Brasil, Chile, Perú, Canadá, Estados Unidos de América, India, Pakistán, Australia, Nueva Zelandia, Gran Bretaña, Holanda, Islandia, Italia, Noruega y la U.R.S.S. entre otras (1,3,5,9,11,13,15,16). En México a pesar de que no existe reporte alguno referente a la enfermedad, esta está presente y ampliamente distribuida en muchas zonas a lo largo del país.

Etiología : Las bacterias que son consideradas como posibles agentes primarios de la enfermedad son : Chlamydia psittaci (4,5,6,10,19, 21), Rickettsia spp. (1,3,4,5,9,17), Moraxella bovis (7,14,15). Branhamella ovis (7,14) y Mycoplasma conjunctivae (2,4,10,11,13) además, una gama muy amplia de agentes dentro de los que se encuentran Bacillus spp. (1,10), Staphylococcus spp. (16), Staphylococcus epidermidis (10,11), Streptococcus spp. (10,13), Corynebacterium pyogenes (11), Escherichia coli (10,11,13), Pseudomonas spp. (11,13), Listeria monocytogenes (10,11) Mycoplasma mycoides var. capri, Acholeplasma oculi (11), difteroides (15) y hongos (15) han sido aislados de ojos enfermos con Q.C.I.O., siendo considerados como gérmenes secundarios o bien como saprófitos del ojo.

Clamidas : Las clamidas comprenden un gran número de microorganismos relacionados antigénica, morfológica y tintorealmente. Son parásitos intracelulares obligados que se multiplican en el citoplasma de las células animales formando inclusiones consistentes en microcolonias de formas clamidiales. Durante su multiplicación, las clamidas emprenden un complicado ciclo de desarrollo (4,5,9). La morfología de estos microorganismos cambia secuencialmente de pequeños e infecciosos cuerpos elementales a mayores cuerpos reticulados que alcanzan un diámetro de 1 μ m., que se dividen por fisión binaria y se organizan nuevamente en cuerpos elementales infecciosos con un diámetro de 0.25 μ m. (4,5). Los cuerpos reticulados son extremadamente frágiles extracelularmente, no son infec-

ciosos y representan las formas metabólicamente activas especializadas en la multiplicación. En las células eucarióticas se les encuentra en vesículas citoplásmicas. Son sensibles a la acción de algunos antibióticos tales como cloramfenicol, tetraciclina, cicloserina y penicilina (4,5,12). Los cuerpos elementales son partículas de vida latente especializadas en la supervivencia extracelular y no son sensibles a los antibióticos. Tienen una pared celular con una composición química compleja que se tiñe como Gram negativo (4,5). Todos los agentes clamidiales comparten un antígeno de grupo que es termoestable y que consiste en un complejo de lipoproteína-carbohidrato (4,5,9). Estos microorganismos no pueden generar compuestos de alta energía y contienen ambos tipos de ácidos nucleicos (5, 9).

Rickettsias : Al igual que las clamidias son parásitos intracelulares obligados y no pueden reproducirse en medios de cultivo convencionales por lo que para su aislamiento se utiliza cultivo celular e inoculación en embrión de pollo. Cuentan con ambos tipos de ácidos nucleicos y con una pared celular la cual se tiñe ligeramente como Gram negativo, aún cuando las tinciones de Maquiavelo, Giemsa y Gimenez sean de mayor utilidad en su identificación. Son un poco mayores que los cuerpos elementales clamidiales, contando con un diámetro de 300 nm. aproximadamente. Son aerobios. Generalmente se asocian a problemas sanguíneos y utilizan vectores como artrópodos en la transmisión de la enfermedad. Las Rickettsias son sensibles a las tetraciclinas tales como la oxitetraciclina y clortetraciclina. Se ha aislado R. conjuntivae de casos de Q.C.I.O., sin embargo no ha sido posible la reproducción de la enfermedad (16).

Micoplasmas : Las formas de vida libre más pequeñas de las que se tiene conocimiento, miden de 125 a 250 nm. de diámetro. Carecen de pared celular y muestran un gran pleomorfismo. La técnica de Giemsa es la

tinción de elección para estos microorganismos aún cuando no es recomendable su aplicación en tejidos. Con Gram se requiere de un frotis muy grueso, tiñéndose como Gram negativo. Son aerobios, aunque algunas especies crecen mejor con la presencia de bióxido de carbono al 5%. Son muy específicos de huésped y tienen una marcada preferencia por las superficies serosas del organismo. Debido a su naturaleza, se requieren de condiciones especiales para su cultivo el cual debe tener suero a una concentración de 10% al 30% o en su defecto, contener ácido acético y el potencial de hidrógeno debe ser de 7.8. Los medios de cultivo más utilizados son el caldo y el agar PPLO. Los micoplasmas requieren de esteroides para su crecimiento. Para el aislamiento de los micoplasmas se agregan penicilina y acetato de talio en el medio de cultivo, o bien las colonias son conducidas a través de filtros Millipore. Las colonias formadas por estas bacterias son muy pequeñas, teniendo un rango de 0.1 a 0.6 mm. de diámetro y tienen una forma parecida a huevos estrellados. Cada especie de micoplasma es identificada por medio de pruebas serológicas como son: Inmunofluorescencia directa e indirecta; inhibición de la hemoaglutinación y prueba de inhibición del crecimiento. Los micoplasmas son sensibles a la espectinomina, lincomicina, tilosina y cloramfenicol*.

Moraxella : Bacilo Gram negativo muy corto, el cual tiene una medida de 0.5 μ m. de largo. Es una bacteria pleomórfica que crece en condiciones de aerobiosis y cuyo aislamiento se realiza en gelosa sangre. Produce reacción No. 5 en TSI. Para combatirla se utilizan sulfonamidas, cloramfenicol y aminoglicosidos**.

Branhamella : Coco Gram negativo. Crece en condiciones de aerobiosis o microaerobiosis en gelosa sangre y gelosa chocolate. Produce reacción No. 5 en TSI. Son sensibles a la acción de la penicilina.

* López, J. Comunicación personal 1981.

** Vázquez, R. Comunicación personal 1981.

Patogenia de la Q.C.I.O. producida por C. psittaci :

La patogenia de la Q.C.I.O. empieza con la entrada de la clamidia a los ojos susceptibles (9). Los rayos ultravioleta del sol, el polvo, el viento y el calor son factores predisponentes, además de hacer los síntomas más marcados (11,13). Los microorganismos entran a las células epiteliales de la conjuntiva por las cuales los cuerpos elementales muestran una afinidad (4,9). El período de incubación es de 24 a 36 horas (1, 17). Una vez en las células, forman vacuolas citoplásmicas, en donde se replican a través de la formación de cuerpos reticulados y posteriormente cuerpos elementales, los cuales se han liberado, ingresando a los fluidos lagrimales e infectando nuevas células (5). La conjuntiva y la cornea pasan por cambios consecutivos y frecuentemente se interrumpe la secuencia y el animal sana. El curso de la enfermedad dura usualmente entre 6 y 10 días (1,5). En algunas ocasiones la clamidia invade la sangre y migra al otro ojo y a articulaciones (9). Los cambios en la conjuntiva empiezan a manifestarse después del ingreso de la clamidia a la conjuntiva y en caso de no haber involución inicial del padecimiento, la mayor severidad se observará de los 7 a los 14 días (19). Si el animal no se recupera espontáneamente, la descarga acuosa tiende a volverse más densa y purulenta debido a las infecciones secundarias (1,5). En esta etapa es difícil encontrar cuerpos de inclusión. El daño mecánico de la cornea y la infección clamidial, la cual altera el sistema de defensa local permite a bacterias potencialmente patógenas, en su mayoría pertenecientes a la flora normal del ojo, contribuir a infecciones secundarias que actuando en combinación con otros factores pueden destruir el ojo (5). Todas las clases de bacterias pueden estar involucradas en infecciones secundarias y han sido implicadas en causar Q.C.I.O. porque es frecuentemente difícil distinguir entre colonización, infección secundaria y la causa primaria de la enfer-

medad. Debido a que las clamidias son parásitos intracelulares obligados, son (al menos a nivel celular) verdaderos patógenos y no simplemente permanecen en las membranas mucosas o en las superficies celulares. Al parecer las infecciones subclínicas persisten con bajos niveles de multiplicación, sostenida por los mecanismos de defensa del huésped. Un disturbio de estos mecanismos de defensa (corticosteroides, stress, malnutrición, parásitos, lactación, etc.) puede provocar el desencadenamiento de la enfermedad (3,4).

Signos Clínicos : La Q.C.I.O. producida primariamente por C. psittaci es la única de todo el resto de las queratoconjuntivitis en presentar quimosis y en mostrar evidencia de hiperplasia de folículos linfoides macroscópicamente. El resto de los signos clínicos aquí descritos son comunes a cualquier clase de Q.C.I.O. El orden de las apariciones de los signos clínicos que a continuación se describe, obedecen a la evolución que presenta la enfermedad cuando C. psittaci es el causante primario de ésta.

La severidad de la Q.C.I.O. es variable, la mayoría de los animales afectados muestran únicamente una queratoconjuntivitis de moderada a severa, la cual cuando no es tratada persiste por 1 a 3 semanas (1,5,6, 9,10,11). Los signos clínicos tempranos consisten en quimosis, dilatación de los vasos conjuntivales en los márgenes palpebrales y blefaroespasmó (5,10,11). Un enrojecimiento difuso se ve posteriormente en los fornix inferiores, en donde también están presentes filamentos delgados de moco (1,5,6,9,10). El desarrollo de folículos linfoides señalan estadios intermedios de la enfermedad (5,9). Los folículos linfoides empiezan como elevaciones pequeñas, discretas y pálidas en la conjuntiva, las cuales se van agrandando progresivamente, llegando a diámetros de 3 mm.; estos confluyen y forman delicados dobleces con una tonalidad que va desde

rosa hasta rojo en el fornix inferior y en el tercer párpado (5,9). La superficie bulbar del tercer párpado tiene numerosos folículos. El desarrollo de los folículos, la hiperemia conjuntival y el edema causan una hinchazón de los tejidos periorbitales (1,5). El drenaje de las lágrimas se obstruye y como consecuencia la epifora se presenta comúnmente y tiempo después una abundante descarga seropurulenta sella los párpados a manera de costra. Los borregos con este tipo de lesión presentan fotofobia (1,3, 4,5,10,11,12,16,19). El edema perilimbal de la cornea refleja signos de conjuntivitis clamidial avanzada y se encuentra asociada con signos de inflamación severa de la conjuntiva bulbar y su extensión hacia la cornea en forma de queratitis (5,6). Hay una neovascularización de la cornea que ocurre principalmente en el limbo superior y que en el transcurso del tiempo se convierte completamente en perilimbal (5,11,17). Los ganglios linfoides parotídeos de los corderos con signos de la enfermedad avanzada son palpados con mayor facilidad. En un gran porcentaje de los casos, ambos ojos se encuentran igualmente afectados (1,3,5,19). Los casos complicados se observan infrecuentemente y consisten en opacidad completa de la cornea y ulceración de la misma (5,9,10,11,12,16). Bajo estas circunstancias existe ceguera, panoftalmia e incapacidad para encontrar alimento y agua (1,11,12,16). En algunos animales puede persistir la turbidez corneal durante varias semanas o incluso ser permanente. En ocasiones la ulceración de la cornea causa colapso del globo ocular (1,3,11). En otros animales se presenta una cicatrización y pigmentación permanente de la cornea (6). En algunas regiones geográficas un porcentaje de los corderos con conjuntivitis tiene a su vez poliartritis y virtualmente todos los corderos con poliartritis tienen conjuntivitis (3,5,9,19).

Se presenta una disminución en la ganancia de peso de los animales. Algunos animales se ven parcialmente anoréxicos y en una condición

general pobre. En muy raros casos se llega a presentar la muerte por in-
nición debida a la opacidad corneal temporal en que los corderos pierden
la visión (16). La temperatura corporal y el pulso es normal (1,16).

Histopatología de la Q.C.I.O. producida por C. psittaci :

Los cuerpos elementales son numerosos en los estadios iniciales
de la enfermedad pero son extremadamente difíciles de hallar después de la
primera semana. El desarrollo de cuerpos de inclusión clamidial se asocia
con una respuesta de células mononucleares y heterofílicas en los corderos
(5,20). Los cambios microscópicos en el epitelio de la cornea consisten
en degeneración hidrópica de la parte central (5). Las inclusiones por
clamidia se encuentran en el epitelio cerca del limbo (5,9). Los tejidos
epitelial y subepitelial de la conjuntiva están infiltrados de leucocitos
polimorfonucleares en los estadios tempranos (5,20). Colecciones subepi-
teliales de macrófagos y células mononucleares han sido encontradas en el
limbo periférico y en los estadios avanzados las células mononucleares
dominan los cambios histológicos (5,20). Se ha encontrado erosión epite-
lial en la conjuntiva (5,9). La hiperemia y edema son prominentes. Los
folículos muestran hiperplasia de linfocitos. Pueden llegar a observarse
úlceras (9).

Diagnóstico de la Q.C.I.O. producida por C. psittaci :

1) Aislamiento en embrión de pollo : La C. psittaci se multiplica en las
células endodérmicas del saco vitelino del embrión de pollo de 6 a 8 días
de edad por lo que la inoculación se hace por esta vía (1,5,6,21). El
promedio de tiempo de muerte del embrión después de la inoculación es in-
versa y linealmente proporcional a la concentración de clamidia en el inó-
culo. Los embriones de pollo inoculado deben ser incubados a 37°C (1,5).
La muerte antes de los tres primeros días posteriores a la inoculación es
usualmente inespecífica (1,5). La infección se determina por medio de la

demostración de cuerpos elementales con la tinción de Gimenez a partir de improntas de saco vitelino de embriones de pollo. Los cuerpos elementales sencillos o en agregados se observan como brillantes puntos rojos. La demostración microscópica de cuerpos elementales en improntas provee una firme prueba de infección. Otros tipos de bacterias son también teñidas de rojo (5). Una forma presuntiva de diagnosticar infección clamidial a través del embrión de pollo, se puede llevar a cabo previamente a la identificación de cuerpos elementales y es en base a las lesiones patológicas de los embriones infectados así como del saco vitelino. Este último presenta una pared delgada con sus vasos sanguíneos profundamente inyectados y una evidente congestión de las ramificaciones de estos vasos sanguíneos. Los vellos trofoblásticos del saco vitelino se encuentran reducidos. El vitelo es normalmente más líquido que el de un embrión de pollo normal de la misma edad y tiene un color amarillo brillante. El embrión puede mostrar las patas y dedos hiperémicos y cianóticos, y a su vez puede presentar un color rojo profundo con hemorragias en la piel (18).

2) Citología exfoliativa : La citología exfoliativa puede ser un instrumento poderoso para el diagnóstico de infección de la conjuntiva por clamidias. Muestras de conjuntiva son colectadas mediante un raspado de la superficie afectada (1,3,5,6,9,11,19,21). Suspensiones de conjuntivas enteras pueden producir cuerpos elementales y pueden ser también un método de detección de infección clamidial, sin embargo, el aislamiento de cuerpos elementales es al parecer, más fácil con los raspados conjuntivales (19). Estas preparaciones citológicas pueden ser fijadas con metanol, pero las células son mejor preservadas con el fijador de Bouin o Zenker (1,5). Muestras de este tipo son teñidas por el método de Giemsa. Las inclusiones citoplásmicas son las indicadoras de diagnóstico (1,4,5,6,21). Estas se observan como puntos irregulares de color azul fuerte adyacentes al

núcleo u ocupando casi la totalidad o la totalidad del citoplasma y manteniendo contacto con el núcleo excéntrico. La presencia de células inflamatorias y otro tipo de células es también de consideración diagnóstica (5,20,24). Las inclusiones por clamidia no deben ser confundidas con detritus o gránulos pigmentarios. Los cuerpos elementales de clamidia liberados de células infectadas no son marcadamente diferenciados mediante la tinción de Giemsa (5,21). La técnica de fluorescencia de anticuerpos brinda especificidad inmunológica a todos los procedimientos diagnósticos histológicos (9). El método de inmunofluorescencia indirecta es más flexible, una vez establecido para un sistema dado. La preparación de inmunofluorescencia puede ser posteriormente teñida con Giemsa o Gimenez para reubicar las inclusiones.

3) Cultivo celular : Esta es otra técnica que puede usarse para el aislamiento de C. psittaci. Sus ventajas son : Su alta sensibilidad, el corto período de tiempo requerido en los resultados (días en lugar de semanas) y el riesgo mínimo de la pérdida del cultivo debido a la contaminación bacteriana (5,21).

4) Animales de laboratorio : El ratón y el cuyo han sido usados para la detección de infecciones por clamidia, sin embargo, las clamidias aisladas de bovinos, ovinos o caprinos, normalmente no se multiplican en tejidos de ratón durante el pase primario. La neumonía natural del ratón producida por clamidia y la queratoconjuntivitis natural de cuyo también producida por ésta puede confundir los resultados del aislamiento, a menos que el ratón y el cuyo se encuentren libres de la infección (5,6).

5) Procedimientos serológicos : Los métodos serológicos que han sido usados para el diagnóstico de diferentes infecciones por clamidias son los siguientes : Fijación de complemento, que es la prueba más ampliamente usada (5,13,19,21); fijación de complemento indirecto; la prueba de ELISA,

que es más rápida y sensible que la prueba de fijación de complemento y puede ser leída objetivamente por espectrofotometría automática; la prueba de precipitación radioinmune, que es altamente sensible, ya que detecta anticuerpos de muchos casos negativos en la prueba de fijación de complemento; la microinmunofluorescencia indirecta; y la técnica de inmunoperoxidasa que produce menos reacciones inespecíficas que la inmunofluorescencia (5).

Control y tratamiento de la Q.C.I.O. producida por C. psittaci :

La literatura veterinaria no es muy clara en el tratamiento de la Q.C.I.O. La mayor parte de los autores no confirman su diagnóstico clínico previo al tratamiento a través de la demostración de los cuerpos de inclusión en las improntas de conjuntiva o por el aislamiento de la clamidia. Ellos podrían estar también tratando la queratoconjuntivitis debida a otras causas (4). Muchos estudios no están propiamente controlados lo cual dificulta la evaluación de la eficacia del tratamiento de una enfermedad autolimitante (4). En casos clínicos serios de Q.C.I.O. las infecciones bacterianas superimpuestas juegan el papel más importante en la patogenia. Los invasores secundarios causan una infección ocular externa que es mucho más fácil de tratar que la infección debida a clamidia intracelular. Sin embargo si la infección clamidial no es controlada por el huésped mientras las infecciones secundarias son tratadas, la reincidencia es probable que ocurra, después del retiro de la terapia (4). El tratamiento de las infecciones secundarias, podría desde luego, a través de la intervención del sistema de defensa del huésped, acortar el curso de la enfermedad. Sin embargo la liberación de cuerpos elementales no es prevenida y no debe esperarse el abatimiento en la dispersión de la enfermedad en un rebaño (4).

Un tratamiento prolongado parece ser requerido para erradicar las clamidias de un huésped. Esto significa que para una cura microbiol6-

gica los borragos enfermos deben tratarse repetidamente en un día por una semana o más. Debido al carácter autolimitante de la enfermedad, la erradicación se considera innecesaria y el control de la enfermedad por medio de tratamiento local de infecciones secundarias parece suficiente (4). Sin embargo debido a que en ocasiones la morbilidad es alta, las lesiones son serias y los relapsos son comunes, un mayor estudio para la evaluación de un tratamiento eficiente y fácilmente aplicable es requerido (12). Es así que los antibióticos (algunos de estos controlando la infección primaria e infecciones superimpuestas, mientras que otros solo éstas últimas) con mayor eficacia son espiramicina y oxitetraciclina, siguiendo en orden decreciente la penicilina G/dihidroestreptomocina cuya inyección por vía subconjuntival da una recuperación lenta y continua, y por último la tiamulina, que tiene un efecto más rápido con una restauración más rápida a su vez (12). Sin embargo inyecciones parenterales ya sean de espiramicina, oxitetraciclina y tiamulina, dan en un considerable número de casos una cura temporal, haciéndose muy probable la reincidencia de la enfermedad (12). Las dosis recomendadas de los antibióticos anteriores es la siguiente : oxitetraciclina, al igual que espiramicina 20-30 mg/kg que debe ser repetida el 5° y 10° día después de su primera administración. Tiamulina 20-30 mg/kg para ser repetido el día 3 y de ser necesario los días 6 y 9 después de su primera aplicación I.M. (14).

De los 3 antibióticos ya mencionados como más efectivos, la oxitetraciclina resulta ser la más efectiva, siguiéndole en orden decreciente la espiramicina y finalmente la tiamulina, que es la menos efectiva y la que presenta mayor oportunidad de relapsos, aunque esta última tiene la ventaja de alcanzar altos niveles de excreción en la lágrima (12). La actividad principal de la tiamulina es en contra de micoplasmas, la cual tiene un efecto adicional contra cocos Gram positivos y por lo tanto tiene

buena actividad en contra de infecciones secundarias (4).

Un tratamiento que ha demostrado ser sumamente eficaz para el control del padecimiento es la inmunoterapia inespecífica, para lo cual se ha utilizado un producto fabricado en base a los siguientes componentes : chiniofon, caseína y bicarbonato de sodio*.

En México existen tratamientos que son de carácter empírico y que han sido utilizados en las explotaciones rústicas aledañas al pueblo de Topilejo y que consiste en la instilación tópica en conjuntiva de jugo de limón, agua salada, aguarras o vinagre, habiéndose visto la recuperación clínica de los animales*.

Los tratamientos tópicos coadyuvantes en el tratamiento para el control de la enfermedad son, entre otros : Rivanol, yodoformo, sulfato de zinc, dibromopropamidín isotionato y argivol. Los corticosteroides están contraindicados cuando hay lesiones en el globo del ojo (11,16).

Con furazolidona se encontró muy buen resultado para un caso de queratoconjuntivitis producida primariamente por Moraxella bovis (23).

Los animales afectados pueden necesitar alimentación suplementaria si existen trastornos de la vista (4,11).

A pesar de que la tetraciclina ha sido mencionada como el antibiótico de elección número uno, algunas mejoras en el tratamiento para controlar la enfermedad pueden realizarse si, en vez de tetraciclina, ciertas drogas que no afectan la flora del rumen y pueden ser administradas oralmente a los borregos fueran usadas, tales como las sulfonamidas, con buen espectro para las bacterias infectantes secundarias (4). Los antibióticos orales deben ser administrados mezclados con el agua de bebida, lo cual asegura niveles más estables en el plasma y además puede servir como un tipo de prevención si se les da a todos los animales en un establo. Un progreso real pudiera ser el uso de preparaciones de liberación controlada.

* Romero, J. Comunicación personal 1986.

Estas matrices elaboradas, granulos revestidos o microcápsulas son usadas para obtener una mayor biodisponibilidad de las drogas y un perfil más sutil de tiempo de concentración. Con este tipo de preparaciones se tiene la posibilidad de tratar la Q.C.I.O., prevenir la reincidencia de la enfermedad, parar la dispersión de la infección en el rebaño y limpiar a los portadores de la infección (4).

Hipótesis : Chlamydia psittaci es uno de los agentes etiológicos primarios de la Q.C.I.O. en México.

Objetivo general : Determinar la importancia de C. psittaci como causa de Q.C.I.O en México.

Objetivo específico : Lograr el aislamiento de una cepa de Chlamydia psittaci a partir de ovinos con queratoconjuntivitis infecciosa.

Antecedentes de la presente investigación :

La Q.C.I.O. en el Centro Ovino del Programa de Extensión Agropecuaria (C.O.P.E.A.) se inició en el año 1978, prevaleciendo hasta la fecha. La morbilidad en ese año fue de 1.6%, mostrando una trayectoria ascendente hasta el año de 1980 en que se presentó en el 100% de los animales. A partir de esa fecha ha seguido una trayectoria descendente, siendo la prevalencia en 1983 del 10.5%. La época de presentación ha sido irregular, no obedeciendo aparentemente a ningún patrón determinado*.

La mayoría de los borregos presentan congestión de la cornea y conjuntiva así como foliuculitis sugestiva de C. psittaci, siendo mínimo el número de aquellos que presentan opacidad de la cornea y menor aún de aquellos con ulceración de la misma. La presentación es, tanto unilateral como bilateral. La enfermedad tiene una duración en la mayor parte de los casos clínicos, de 3 días, con un rango de 2 a 28 días. Se presentan recidivas de entre el 10 y 15% del total de los animales enfermos. Todos los animales son tratados desde el momento de la detección de la enfermedad con * C.O.P.E.A., Información de los archivos de 1983.

cualquiera de estos 4 tratamientos : sulfadimetilpirimidina parenteralmente, oxitetraciclina parenteralmente y por vía subconjuntival, furoxona tópicamente y el producto compuesto de chiniofon, caseína y bicarbonato de sodio, mencionado previamente. En ciertos casos de opacidad y ulceraciones se administra tetraciclina, estreptomocina y flumetazona en forma combinada por vía subconjuntival*.

En exámenes bacteriológicos de esta enfermedad, llevados a cabo en el departamento de bacteriología de la F.M.V.Z. de la U.N.A.M. en forma previa al presente trabajo, se aislaron los siguientes microorganismos : Branhamella ovis; Bacillus spp.; Micrococcus luteus; Nocardia brasiliensis; Bacillus coagulans; Streptococcus faecium y Moraxella spp., no estando ninguna de estas bacterias presente en todos los casos clínicos. Asimismo se reportan algunos casos clínicos en los que no se presentó crecimiento a los 7 días*.

* Romero, J. Comunicación personal 1986.

MATERIAL Y METODOS

El estudio se realizó a partir de ovinos del Centro Ovino del Programa de Extensión Agropecuaria (C.O.P.E.A.) de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la U.N.A.M., ubicado en Topilejo Distrito Federal (Delegación Tlalpan) a la altura de km 29 de la carretera federal México-Cuernavaca, con una altitud de 2760 m. sobre el nivel del mar. Su ubicación geográfica es 19° 13' latitud N y 99° 8' long O. El clima es subhúmedo templado, con una temperatura media de 10.07°C y una precipitación pluvial anual de 800-1200 mm. La explotación es de tipo intensivo (22).

Procedimiento :

Muestras clínicas : Se tomaron 37 muestras clínicas de 19 corderos afectados por Q.C.I.O., las cuales fueron procesadas para citología exfoliativa y otras 37 muestras que fueron utilizadas para intentar el aislamiento de C. psittaci.

A. Recolección y preparación de muestras clínicas para citología exfoliativa

Se realizaron improntas de raspados conjuntivales de ambos ojos de los corderos ya mencionados, por medio de espátulas de madera estériles. Los portaobjetos con las improntas fueron debidamente identificados de acuerdo con el número del arete de cada cordero, señalando a su vez el ojo del cual se obtuvo la muestra, para después ser transportados al laboratorio, donde fueron teñidos y observados por el método de Giemsa (18). Las improntas teñidas fueron observadas a través del microscopio de campo claro para evaluar los tipos celulares y las formas bacterianas presentes, y para buscar inclusiones citoplásmicas basofílicas características de una infección por clamidias.

B. Recolección y preparación de las muestras clínicas para el aislamiento de C. psittaci

Cada uno de los ojos de los corderos enfermos fue sometido a un raspado conjuntival por medio de una espátula de madera estéril, la cual fue incluida en un tubo conteniendo 2 ml. de solución sucrosa-fosfatos con 0.5 mg/l de estreptomicina y 2% de suero fetal bovino (solución de Bovarnick) (18). Estas muestras fueron transportadas inmediatamente al laboratorio de bacteriología de la Facultad de M.V. y Z. de la U.N.A.M. a una temperatura aproximada de 4°C. Una vez en el laboratorio, las muestras fueron conservadas a -70°C hasta el momento en que fueron utilizadas como inóculo para intentar el aislamiento de C. psittaci. A partir de cada muestra se inocularon 3 embriones de pollo de 7 días de edad con 0.5 ml. de inóculo cada uno, por la vía del saco vitelino de acuerdo a procedimientos establecidos (19). Algunos de los embriones eran libres de patógenos específicos y libres de antibióticos. Los embriones inoculados fueron incubados a 37°C y ovoscopiados diariamente 14 días consecutivos para verificar su viabilidad. Los embriones que murieron dentro de los 3 primeros días postinoculación fueron desechados después de hacerles pruebas de esterilidad. Los embriones que murieron más tardíamente fueron conservados en refrigeración por no más de 4 días para después ser cosechados y examinados con el objeto de confirmar la presencia de lesiones sugestivas de infección por C. psittaci (18). Al mismo tiempo se tomaron muestras del vitelo, las cuales fueron sembradas en agar sangre para comprobación de esterilidad. También se hicieron improntas del saco vitelino, que fueron fijadas al calor y teñidas con la técnica de Gimenez para ser observadas en el microscopio de campo claro e intentar el hallazgo de cuerpos elementales característicos. Con base a este criterio fueron seleccionados 3 sacos vitelinos cuyas improntas con la técnica de Gimenez resultaron ser los más sugestivos de infección por clamidia, para la realización de un 2° y 3er pases semiciegos, realizando para esto diluciones decimales del

inóculo y aplicando la misma técnica de inoculación ya descrita, para la realización de dichos pases.

RESULTADOS

En el cuadro no. 1 se muestran los hallazgos logrados en la citología exfoliativa con la tinción de Giemsa a partir de las 37 muestras observadas. Fueron reconocidas diversas formas bacterianas y leucocitos polimorfonucleares, así como una única inclusión citoplásmica sugestiva de una infección por clamidias. Se utilizó una escala arbitraria del 1 a 4, otorgando un número mayor o menor de acuerdo con la frecuencia y cantidad en que fueron observados cada uno de los elementos de interés en los distintos campos de observación al microscopio óptico. Los números 3 y 4 fueron considerados como significativos, mientras que los números 1 y 2 no lo fueron. Para calificar la presencia de inclusiones citoplásmicas se utilizaron los signos + y -. Es así como podemos observar la presencia de 1 caso de inclusión citoplásmica, 17 casos significativos de formas parecidas a cuerpos elementales de clamidias, 10 casos significativos de leucocitos polimorfonucleares, y 12 de bacterias con forma de cocos. Cabe hacer mención que las formas parecidas a clamidia y los cocos fueron observados, en ocasiones distribuidos heterogéneamente por todo el campo de observación y en otras ocasiones, en íntima asociación con las células epiteliales de la conjuntiva, estando a veces en forma combinada estas 2 presentaciones. Asimismo, fueron hallados en algunas improntas linfocitos en cantidad variable pero "no significativa".

En el cuadro no. 2 se observan los porcentajes de cada uno de los hallazgos encontrados en cantidades significativas en la citología exfoliativa, así como el porcentaje de improntas que mostraron inclusiones citoplásmicas del total de las muestras.

En el cuadro no. 3 aparecen aquellas muestras que fueron positivas en la técnica del embrión de pollo por haber mostrado cambios patológicos y formas parecidas a cuerpos elementales de clamidia, mientras que

en el cuadro no. 4 se muestran los porcentajes en que estas muestras resultaron positivas, así como de los animales también positivos, de acuerdo a esta consideración. Diez de los diez y nueve animales muestreados (53%) y trece de las treinta y siete muestras (35%) fueron positivas con este criterio.

La muestra en la cual se halló el cuerpo de inclusión a través de la técnica de Giemsa, resultó negativa en la técnica de embrión de pollo.

En el cuadro no. 5 se presenta el seguimiento de una de las 3 muestras a las cuales les fueron aplicados pases semiciegos y en el que se detalla, como en los 3 pases ocurrieron hallazgos de formas parecidas a cuerpos elementales, después de su observación en el microscopio de campo claro. Las cantidades de estas formas parecidas a cuerpos elementales observadas, siempre fueron escasas y se mantuvieron constantes a través de los 3 pases semiciegos llevados a cabo. Es importante señalar también que el tiempo de muerte de los embriones de pollo, no presentó un patrón definido de acuerdo a las concentraciones del inóculo como se muestra en el cuadro. Las otras 2 muestras a las que se les aplicó pases semiciegos, mostraron las mismas características en su seguimiento.

DISCUSION

La observación de formas parecidas a cuerpos elementales, tanto en las im-
prontas conjuntivales teñidas con la tinción de Giemsa (17) como en las
improntas de saco vitelino teñidas con la tinción de Gimenez (11,12); el
hallazgo de una inclusión citoplásmica sugestiva de clamidias (1,4,6,21,
24); un patrón celular sugestivo de infección por clamidias (5,24); y la
descartada posibilidad de cualquier tipo de bacteria (a excepción de mico-
plasmas y rickettsias) como agente infeccioso primario en la presente en-
fermedad, hacen suponer que Chlamydia psittaci se encuentra involucrada
en la etiología del padecimiento, motivo de este estudio. Sin embargo, la
imposibilidad de incrementar la infectividad de las muestras mediante pa-
ses semiciegos representó un impedimento para el establecimiento de una
cepa de Chlamydia que pudiera ser caracterizada bajo criterios rigurosos.
Esta situación impidió establecer firmemente a la C. psittaci como el agen-
te o uno de los agentes causales de la Q.C.I.O. en México.

Los frustrados intentos de incrementar el número del agente in-
feccioso, pudieran explicarse con la notable disminución o hasta abati-
miento en la sensibilidad a las clamidias por parte de los embriones de
pollo, debido a un efecto de estacionalidad que ha sido ampliamente acep-
tado por quienes trabajan con rickettsias y clamidias, siendo corroborado
experimentalmente por Jawetz (8,18).

Hipotéticamente pudiera pensarse también en la dificultad que en
ocasiones presentan algunos agentes infecciosos para su adaptación a un me-
dio ambiente distinto al original. Cello (6) reporta haber hallado inclu-
siones típicas por clamidia de células de conjuntiva, no teniendo éxito en
el intento por cultivar y aislar el agente. Por otro lado König (11,12)
reporta haber encontrado formas de Colesiota en improntas de raspados con-
juntivales teñidas por la técnica de Giemsa fallando en su intento por dar

una información más clara. Lo obtenido en la presente investigación coincide con lo anterior.

El reducido porcentaje obtenido, relativo a la presencia de cuerpos de inclusión en las células conjuntivales puede ser un resultado normal, coincidiendo este hecho con los resultados obtenidos por Wilhelmus et. al. (24). Esto es debido a la presencia reducida de inclusiones en proporción a la cantidad total de células de conjuntiva existentes. Al mismo tiempo es conocido el hecho, que para lograr estos hallazgos, se deben tomar las muestras en las etapas iniciales de la enfermedad, reduciéndose las posibilidades de ser encontrados, en la medida en que transcurra el tiempo (5).

No se descarta sin embargo la posibilidad de que las formas parecidas a clamidia, identificadas así en esta investigación, hallan sido micoplasmas, hecho éste que fue motivo de confusión e incertidumbre para Spradbrow y Marley (17) y causa de contradicción en la literatura existente. En un trabajo colateral a esta investigación se ha intentado el cultivo de Mycoplasma spp. a partir de lavados de conjuntiva con hisopos estériles, aún cuando por el momento no ha sido posible el aislamiento y caracterización de este germen*.

Esta investigación aporta pruebas que hacen sospechar a C. psittaci como agente involucrado en el problema, de la misma manera como diferentes autores (4,6,10,19,21) al haber aislado este agente a partir de muestras de ovinos con Q.C.I.O. también lo han hecho. Sin embargo hay que tomar en cuenta que la etiología de la enfermedad es compleja y la literatura mundial a este respecto es contradictoria, por lo que la causa de Q.C.I.O. permanece oscura, aún más cuanto la lista de microorganismos candidatos se está incrementando. Para ningún agente hay una prueba rigurosa establecida de su relación causal, y pudiera ser que hubiera más de una

* De la Peña, A. Comunicación Personal 1986.

forma de la enfermedad y más de una causa.

El papel etiológico de C. psittaci en la Q.C.I.O. en México requiere de mayor investigación utilizando métodos más específicos, tales como la inmunofluorescencia. Por el momento no se cuenta con los reactivos necesarios para este tipo de estudios, pero su implementación está contemplada como una prioridad dentro de los proyectos de investigación a futuro en el Departamento de Bacteriología de la F.M.V.Z.

LITERATURA CITADA

1. Abbas, B., Razig, S. A. and Shigidi, M.T.A. : The aetiology of a Keratoconjunctivitis occurring in goats in the Sudan. The Veterinary Record., 105 : 348-350 (1979).
2. Barile, M.F., Del Giudice, R.A. and Tully, J.G. : Isolation and Characterization of Mycoplasma conjunctivae sp. n. from Sheep and Goats with Keratoconjunctivitis. Infection and Immunity., 5 (1) : 70-76 (1972).
3. Blood, D.C., Henderson, J.A. y Radostits, O.M. : Medicina Veterinaria, 5ta ed. Interamericana, México, 1983.
4. Bogaard, A.E.J.M. : Inclusion Keratoconjunctivitis("pink eye") in sheep. The Veterinary Quarterly., 6 (4) : 229-235 (1984).
5. Bohm, R., Fichtner, R.E., Gilmour, M.J.L., Krauss, H., Nizchke, E., Pier, A.C., Ross, R.F., Schaal, E., Schlieber, Th., Stalheim, O.H.V. and Storz, J. : Handbuch der bakteriellen infektionen bei tieren. Fischer Verlag, Rep. Fed. Alem., 1985.
6. Cello, R.M. : Ocular Infections in animals with P.L.T. (Bedsonia) group agents. American Journal of ophthalmology., : 1270/244-1273/247 (1967).
7. Fraser, J. and Gilmour, N.J.L. : The identification of Moraxella bovis and Neisseria ovis from the eyes of cattle and sheep. Research in Veterinary Science., 27 : 127-128 (1979).
8. Jawetz E. : Seasonal insusceptibility of embryonated eggs to viruses of Trachoma and Inclusion conjunctivitis. Annals New York Academy of Sciences., 98 : 31-41 (1962).
9. Jensen, R. : Diseases of Sheep, Lea J Febiger, Philadelphia, 1974.
10. Jones, G.E., Foggie, A., Sutherland, A. and Harker, D.B. : Mycoplasmas and ovine Keratoconjunctivitis. The Veterinary Record., 99 : 137-141 (1976).
11. K8nig, C.D.W. : Keratoconjunctivitis Infectiosa Ovis (KIO), "pink eye"

- or "zere oogjes" (a survey). The Veterinary Quarterly., 5 (3) : 127-130 (1983).
12. König, C.D.W. : "Pink eye" or "zere oogjes" or Keratoconjunctivitis Infectiosa Ovis (KIO). The Veterinary Quarterly., 5 (3) : 122-127 (1983).
13. Langford E.V. : Mycoplasma and Associated Bacteria Isolated from Ovine Pink-eye. Can. J. comp. Med., 35 : 18-21 (1971).
14. Moreno, G., Bottino, J.A., M6s, E.N. e Yanaguita, R.M. : Ceratoconjuntivite Infecciosa de Bovinos provocada por (Neisseria Ovis N. SP. Lindqvist, 1960). Arg. Inst. Biol., 35 (4) : 173-179 (1968).
15. Moreno, G., Bottino, J.A. e M6s, E.N. : Ceratoconjuntivite Infecciosa de ovinos provocada por Moraxella Bovis. Arg. Inst. Biol., 35 (4) : 181-183 (1968).
16. Osuagwuh, A.I.A. and Akpokodje, J.U. : Infectious Keratoconjunctivitis in goats and sheep in Nigeria. The Veterinary Record., 105 : 125-126 (1979).
17. Spradbrow, P.B. and Marley, J. : Ovine Kerato-conjunctivitis. Possible T strain Mycoplasmas in the conjunctival sac. Australian Veterinary Journal., 47 (3) : 116-118 (1971).
18. Storz, J. : Chlamydia and Chlamydia-Induced Diseases, Charles C. Thomas, Illinois, 1971.
19. Storz, J., Pierson, R.E., Marriot, M.E. and Chow, T.L. : Isolation of psittacosis agents from follicular conjunctivitis of sheep. Proceedings of the society for Experimental Biology and Medicine., 125 : 857-860 (1967).
20. Surman, P.G. : Cytology of "PINK-EYE" of sheep, including a reference to trachoma of man, by employing acridine orange and iodine stains, and isolation of Mycoplasma agents from sheep eyes. Aust. J. biol. Sci., 21 : 447-467 (1968).

21. Surman, P.G. : The isolation of Chlamydia agents from conjunctival scrapings of sheep with Keratoconjunctivitis. Australian Veterinary Journal., 55 : 401 (1979).
22. Vargas, V.T. : Efecto del destete temprano en corderos de la raza Suffolk mantenidos en estabulación. Tesis de licenciatura. Fac. de Med. Vet. y Zoot. Universidad Nacional Autónoma de México, D.F. 1985.
23. Vernimb, G.D. : A furazolidone aerosol powder in the prevention and treatment of Keratoconjunctivitis in cattle and sheep. Veterinary Medicine Small Animal Clinician., 64 (8) : 708-710.
24. Wilhelmus, K.R., Robinson, N.M., Tredici, L.L. and Jones, M.D. : Conjunctival cytology of adult chlamydial conjunctivitis. Arch. Ophthalmol., 104 : 691-693 (1986).

Cuadro No. 1

Apreciación cualitativa y cuantitativa de los elementos
relevantes hallados en la citología exfoliativa

no. elementos hallados de muestra	O J O	Inclusiones citoplasmicas	formas pareci- das a clamidia	polimorfonu- cleares	cocos	bacilos
4149	Izquierdo	---	2	2	2	0
4166	Izquierdo	---	3	3	3	3
4170	Izquierdo	---	3	1	3	0
4176	Izquierdo	---	2	0	2	0
4194	Izquierdo	---	4	4	4	4
4201	Izquierdo	---	2	3	2	0
4222	Izquierdo	---	3	3	3	0
4230	Izquierdo	---	0	2	0	0
4232	Izquierdo	---	3	2	3	0
4232	Izquierdo	---	4	0	4	0
4259	Izquierdo	---	1	1	1	0
4262	Izquierdo	---	2	0	2	0
4262	Izquierdo	---	4	4	4	0
4298	Izquierdo	---	1	1	1	0
4311	Izquierdo	---	4	0	4	0
4321	Izquierdo	---	4	0	4	0
4321	Izquierdo	---	2	4	2	0
4358	Izquierdo	+	4	4	4	4
4378	Izquierdo	---	4	4	4	4
4384	Izquierdo	---	3	3	3	3
4384	Izquierdo	---	3	0	3	0
4542	Izquierdo	---	3	2	3	0
4542	Izquierdo	---	3	2	3	0
4701	Izquierdo	---	1	1	1	0

1 y 2 - cantidades no significativas

3 y 4 - cantidades significativas

- ningún hallazgo en la impronta

Cuadro No. 2

Hallazgos "significativos" en la citología
exfoliativa de corderos con Q.C.I.O.

Elementos hallados en la muestra	Número de muestras (%)
Inclusiones citoplásmicas	1 (2.6)
Formas parecidas a cuerpos elementales	17 (44.7)
Leucocitos polimorfonucleares	10 (26.3)
Cocos	12 (31.6)

Cuadro No. 3

Hallazgos de formas parecidas a cuerpos elementales
en embriones de pollo inoculados con material clínico

Muestra	Ojo	Resultado
4149	Izq	-
	Der	+
4166	Izq	±
	Der	+
4170	Izq	-
	Der	-
4176	Izq	+
	Der	+
4194	Izq	-
	Der	±
4201	Izq	+
	Der	-
4222	Izq	-
	Der	-
4230	Izq	+
	Der	-
4232	Izq	+
	Der	±
4259	Izq	±
	Der	-
4262	Izq	-
	Der	±
4298	Izq	-
	Der	N.R.
4311	Izq	-
	Der	+ (1,2,3)
4321	Izq	-
	Der	-
4358	Izq	-
	Der	-
4378	Izq	-
	Der	+
4384	Izq	-
	Der	+ (1,2)
4542	Izq	-
	Der	+ (1,2,3)
4701	Izq	+
	Der	+

+ positivo

- negativo

± sospechoso

(1,2) dos pases semiciegos

(1,2,3) tres pases semiciegos

N.R. no se realizó

Cuadro No. 4

Porcentaje de embriones de pollo con cambios patológicos que mostraron formas similares a Chlamydia en improntas de saco vitelino

Material	No. de Positivos (%)
Raspados conjuntivales (37)	13 (35)
Corderos (19)	10 (53)

Cuadro No. 5

Seguimiento de los 3 pases semiciegos
de la muestra 4311-O.D.

Muestra	Pase	No. de Embrión	Dilución del inóculo	Días de muerte postinoculación	Lesiones y Tintión de Gimenez
4311 Ojo Derécho Material (Clínico)	1	1	10°	11	+
		2	10°	8	+
		3	10°	(-)	NR
4311 Ojo Derécho (Embrión #1)	2	4	10 ⁻²	(-)	NR
		5	10 ⁻²	< 4	NR
		6	10 ⁻²	6	-
		7	10 ⁻³	(-)	NR
		8	10 ⁻³	< 4	NR
		9	10 ⁻³	8	+
		10	10 ⁻⁴	< 4	NR
		11	10 ⁻⁴	< 4	NR
		12	10 ⁻⁴	12	+
		4311 Ojo Derécho (Embrión #9)	3	13	10°
14	10°			8	-
15	10°			(-)	NR
16	10 ⁻¹			(-)	NR
17	10 ⁻¹			< 4	NR
18	10 ⁻¹			14	-
19	10 ⁻²			(-)	NR
20	10 ⁻²			(-)	NR
21	10 ⁻²			(-)	NR
22	10 ⁻³			14	+
23	10 ⁻³			< 4	NR
24	10 ⁻³			8	+

(-) No murió durante el plazo de 14 días postinoculación

+ positivo

- negativo

NR. no se realizó