



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA
MAESTRÍA EN CIENCIAS DE LA SALUD Y LA PRODUCCIÓN ANIMAL

Determinación de la presencia de *Chlamydophila psittaci* en aves de compañía, aves silvestres en cautiverio y su relación con la enfermedad en humanos.

TESIS

PARA OBTENER EL GRADO DE MAESTRO EN CIENCIAS

PRESENTA

JUAN CARLOS MORALES LUNA

TUTOR

Dr. José Antonio Quintana López.

Comité tutorial

Dra. Cristina Escalante Ochoa

Dr. Ariel Ortiz Muñiz

Asesores

Dr. Tamas Lazslo Fehervari Bone

Dra. Odette Urquiza Bravo

Ciudad de México, D.F. Septiembre de 2006



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 esta 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.

DECLARACIÓN

El autor da su consentimiento a la División de Estudios de Posgrado e Investigación de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Nacional Autónoma de México para que la presente tesis esté disponible para cualquier tipo de reproducción o intercambio bibliotecario.

M.V.Z. Juan Carlos Morales Luna

Este trabajo fue financiado en parte por la Dirección General de Asuntos del Personal Académico con el Proyecto para la Investigación e Investigación Tecnológica (PAPIIT), con el no. de proyecto IN2I9803.

Y por el Consejo Nacional de Ciencia y tecnología (CONACYT) con el proyecto de investigación CONACYT 40504-Z.

INDICE

| | | Páginas |
|--------------|--|-----------|
| 1 | INTRODUCCIÓN..... | 1 |
| 1.1 | Antecedentes..... | 1 |
| 1.2 | Distribución geográfica..... | |
| 1.3 | Importancia para la salud pública..... | 2 |
| 1.4 | Etiología..... | 4 |
| 1.5 | Ciclo y desarrollo de <i>C. psittaci</i>..... | 4 |
| 1.6 | Especies susceptibles..... | 6 |
| 1.7 | Transmisión..... | 6 |
| 1.8 | Período de incubación y patogenia..... | 6 |
| 1.9 | Morbilidad y mortalidad..... | 7 |
| 1.10 | Signos clínicos..... | 8 |
| 1.11 | Lesiones macroscópicas..... | 9 |
| 1.12 | Lesiones microscópicas..... | 10 |
| 1.13 | Prevención y control..... | 10 |
| 1.14 | Inmunización..... | 10 |
| 1.15 | Tratamiento..... | 11 |
| 1.16 | Diagnóstico..... | 11 |
| 1.17 | Diagnóstico diferencial..... | 13 |
| 2 | JUSTIFICACIÓN..... | 15 |
| 3 | HIPÓTESIS..... | 15 |
| 4 | OBJETIVOS..... | 16 |
| 5 | MATERIAL Y MÉTODOS..... | 17 |
| 5.1 | Sujetos en evaluación..... | 17 |
| 5.1.1 | Aves..... | 17 |
| 5.1.2 | Humanos..... | 18 |
| 5.2 | Determinación de anticuerpos..... | 19 |
| 5.2.1 | En aves..... | 19 |
| 5.2.2 | En humanos..... | 19 |

| | | |
|-------|--|----|
| 5.2.3 | Ensayo inmunoenzimático (ELISA)..... | 20 |
| 5.3 | Aislamiento de <i>C. psittaci</i> | 21 |
| 5.3.1 | Colección de muestras..... | 21 |
| 5.3.2 | Aislamiento en embrión de pollo..... | 22 |
| 5.3.3 | Tinción..... | 22 |
| 5.3.4 | Cultivo celular..... | 23 |
| 5.3.5 | Inmunofluorescencia..... | 24 |
| 5.3.6 | Análisis estadístico..... | 25 |
| 6 | RESULTADOS..... | 26 |
| 6.1 | Prueba inmunoenzimática, aislamiento e identificación..... | 26 |
| 6.2 | Prueba inmunoenzimática en humanos..... | 27 |
| 6.3 | Análisis estadístico..... | 27 |
| 7 | DISCUSIÓN..... | 29 |
| 8 | CONCLUSIONES..... | 41 |
| 9 | REFERENCIAS..... | 42 |
| 11 | CUADROS..... | 48 |
| 12 | FIGURAS..... | 55 |

Resumen

Determinación de la presencia de *Chlamydophila psittaci* en aves de compañía, aves silvestres en cautiverio y su relación con la enfermedad en humanos.

La Clamidiosis es una enfermedad infecciosa causada por *Chlamydophila psittaci*, conocida también como Psitacosis u Ornitosis. Presenta distribución mundial, siendo de particular importancia en aves de compañía y otras aves en cautiverio, dado que puede ser transmitida al humano en el cual puede llegar a producir una peligrosa condición clínica. Se utilizó una prueba de ELISA comercial, específica para la detección de anticuerpos contra *C. psittaci*. Para el diagnóstico serológico y bacteriológico de *C. psittaci*. Así mismo, se muestrearon 50 personas de grupos de alto y bajo riesgo de infección. Las pruebas se realizaron en el Departamento de producción animal: Aves y en el Departamento de Microbiología e Inmunología de la FMVZ-UNAM. Se muestrearon 150 aves en cautiverio de 9 diferentes familias, 25 aves con sintomatología sugerente de clamidiosis y 125 aves aparentemente sanas procedentes de zoológicos, tiendas de mascotas, criaderos y clínica de aves. Cincuenta y ocho por ciento (87/150) del total de animales muestreados fueron seropositivos. Con referencia particular al estado clínico de las aves muestreadas, el 96% de las aves con sintomatología respiratoria y el 50.4 % de las aves clínicamente sanas fueron positivas a la prueba. El aislamiento de la bacteria en embriones de pollo y cultivo celular, resultó en un 28/32 (80 %) positivas. Fueron muestreadas dos poblaciones de humanos de alto y bajo riesgo, 18/50 (36%) muestras resultaron positivas serológicamente. Los resultados indican el contacto con *Chlamydophila psittaci* en aves en cautiverio y personas en México.

Palabras clave: Ornitosis, Psitacosis, *Chlamydophila psittaci*, Aves de compañía.

Abstract.

Determination of *Chlamydophila psittaci* in captivity wild and companion birds and its relation with human disease.

Avian clamidiosis, also known as ornithosis or psittacosis, is caused by *Chlamydophila psittaci*. It is a disease with worldwide distribution with particular importance in companion birds like parrots and other birds. *C. psittaci* can also be transmitted to mammals including humans, where they may result in serious illness. A commercial specific ELISA test was used to diagnose antibodies against *C. psittaci* in 150 captivity wild and companion birds with (25) and without (125) clinical signs suggestive of Chlamydiosis, whose procedence comprises zoo's, pet stores, avicultural facilities, and a pet clinic, and which includ birds from 9 different families. 50 humans sera were tested also from high and low infection risk populations. Tests were performed in the Poultry and Microbiology departments, FMVZ- UNAM. 58 % (87/150) positive serologic results were obtained from the total birds. 96% of the birds with respiratory signs and 50.4 % of the apparently health animals were positive. Eighty percent of 32 birds sampled for bacterial isolation were positive (28/32) in chicken embryos and cell culture. 36% (18/50)of the human sera were positive to serological tests. The results showed that *Chlamydophila psittaci* has been in contact with captivity wild and companion birds and people in Mexico.

Key words: Ornithosis, Psittacosis, *Chlamydophila psittaci*, Companion birds

1. INTRODUCCION

La Clamidiosis Aviar es una enfermedad infecciosa zoonótica de distribución mundial integrada en la lista B de la Organización mundial de sanidad animal (OIE), causada por la bacteria *Chlamydophila psittaci* (*C. psittaci*), anteriormente conocida como *Chlamydia psittaci*, y conocida también como psitacosis en psitácidos u ornitosis en el resto de las aves. La infección puede ser localizada o sistémica, principalmente respiratoria en aves y mamíferos incluyendo al humano (Acha, 1992).

1.1 Antecedentes

Una enfermedad parecida a la clamidiosis aviar fue descrita por primera vez en Alemania en 1879, un número de brotes subsecuentes fueron reportados en Europa, siendo el de París, Francia el más importante en 1890. Morange en 1895 acuñó el término psitacosis para esta enfermedad a partir del griego *ψιτταχος* (latín *Psittacus*) de donde proviene la palabra psitácido (Loro) (Ramsay, 2004).

La mayoría de los estudios sobre Clamidiosis aviar en aves psitácidas silvestres se publicaron entre 1934 y 1942. Los estudios en aves de corral como pavos y patos aparecieron desde 1938 (Page, 1985).

El primer reporte de psitacosis en humanos, fue realizado por Hegler en Hamburgo en el año de 1929. Para la primavera de 1930 la enfermedad se diseminó hacia Austria, Checoslovaquia, Dinamarca, Francia, Alemania, Holanda, Islandia, Italia, Noruega, Polonia, España, Suiza y Suecia en Europa, en Noráfrica en Algeria y Egipto; en Norteamérica en Canadá, Estados Unidos y México y en el Pacífico Oeste en Japón y Australia (Ramsay, 2004).

1.2 Distribución Geográfica

Esta enfermedad se encuentra distribuida mundialmente, su incidencia es altamente variable, Se encuentra tanto en aves domésticas como gallinas y pavos, así como en aves silvestres y de compañía. En estudios realizados en aves de vida libre por Brand (1989) el porcentaje de aves infectadas fue del 22% para las aves passeriformes (aves canoras), el 23% se encontró en caradriformes (aves

marinas principalmente) conformando la mayor proporción de aves hospedadoras, para anseriformes fue de 16% (aves acuáticas), y el 39% restante involucra 11 ordenes y 43 especies de aves de una amplia variedad de rangos geográficos y nichos ecológicos.

1.3 Importancia para la salud pública

Enfermedad de particular importancia en el caso de la población de alto riesgo de infección, conformada por veterinarios, laboratoristas, trabajadores de granjas, trabajadores de plantas de procesamiento, trabajadores de tiendas de mascotas, cuidadores de zoológico y propietarios de aves (Cuadro 1). Durante la década de los años ochenta, en aproximadamente el 70% de los casos de clamidiosis en humanos, la fuente de infección fue la exposición a aves de jaula. De estos el 43% correspondió a fanáticos de las aves y propietarios de tiendas de mascotas quienes fueron el grupo más afectado (Johnston *et al*, 2000).

Al respecto Hayde (1997), en Alemania, informó el caso de una paciente embarazada de 33 años de edad, con un cuadro de neumonía atípica complicada, fiebre progresiva, coagulación intravascular, disfunción renal, nacimiento prematuro y muerte perinatal del producto. El diagnóstico de Clamidiosis aviar fue confirmado serológicamente utilizando la prueba de fijación de complemento y por histopatología de la placenta, donde se observaron inclusiones basofílicas intracitoplasmáticas dentro del sincitiotrofoblasto. Por otro lado Lederer *et al*, (1999) comunicaron de un brote de clamidiosis aviar en un rastro de pollos que afectó a 10 trabajadores, de los cuales 2 murieron. La técnica de microinmunofluorescencia (MIF) fue utilizada para detectar anticuerpos contra *C. psittaci* en todo el personal de la planta, resultando que el 71.9% de los trabajadores presentaba anticuerpos contra *C. psittaci*. Maegawa (2001), por medio de fijación de complemento confirmó el diagnóstico de Clamidiosis aviar de 2 empleados de una tienda de mascotas que presentaban cuadro respiratorio. En Inglaterra, Bourne (2003), reportó el caso de un hombre de 63 años de edad el cual presentaba signos de peritonitis aguda sin presencia de signos respiratorios, se realizaron pruebas de detección de Inmunoglobulina G (IgG) por

inmunofluorescencia, confirmando el diagnóstico de Clamidiosis aviar. Por medio de un seguimiento epidemiológico, en cada caso se determinó que los humanos tuvieron contacto con diferentes tipos de aves, entre las que estaban involucradas periquitos australianos, loros y aves de corral.

En el período comprendido de 1988 a 1998, el Centro para el Control y la Prevención de Enfermedades (CDC) de los EEUU, recibió 813 registros de psitacosis en humanos, considerándose un número conservador debido a que esta enfermedad es difícil de diagnosticar y casi nunca es reportada (Johnston *et al.*, 2000).

Alrededor del mundo la posesión de aves de ornato se ha incrementado de pocos años a la fecha en forma considerable. Un estudio de la Asociación americana de médicos veterinarios (Fudge, 1992), indicó que tan sólo en EEUU, la población de este tipo de mascotas alcanzaba la cantidad de 13 millones de ejemplares, y a la fecha, esta cantidad se ha duplicado; de hecho, dentro de la industria de productos para mascotas (alimentos, utensilios, servicios, etc.) las aves de ornato ocupan el segundo lugar en importancia después de los perros y gatos (Anónimo, Association of Avian Veterinarians AAV, 2002).

Según Ramsay (2004), en el año de 1930 un brote de clamidiosis aviar en humanos se presentó en la república Mexicana. Posteriormente en México, se han llevado a cabo estudios sobre la presencia de la psitacosis. Meyer en 1965 mencionó el hallazgo de anticuerpos contra *C. psittaci* en palomas silvestres y en épocas recientes, se ha logrado aislar la bacteria a partir de diferentes especies de aves (Rojas, 1996; Urquiza *et al.*, 1997) y a partir de caprinos (Escalante-Ochoa *et al.*, 1997).

En México, el agente *C. psittaci* está considerado dentro del grupo 1 de enfermedades exóticas a la ganadería y avicultura nacional en el Diario oficial: "Acuerdo mediante el cual se enlistan las enfermedades y plagas exóticas de notificación obligatoria en los Estados Unidos Mexicanos" (DOF, 5 de marzo de 1999; SAGARPA, 2005).

1.4 Etiología

C. psittaci es una bacteria esférica, Gram negativa de 0.3 a 1.5 μm de diámetro. Tiene una pared celular rudimentaria constituida por lipopolisacáridos que contienen oligosacáridos específicos trisacárido 3 Deoxy-D_mano-2-ácido octulosónico (Kdo). Es un organismo parásito intracelular obligado. *C. psittaci* pertenece al orden *Chlamydiales* de la familia *Chlamydiaceae*. El género *Chlamydia* está constituido por *C. trachomatis*, *C. muridarum*, y *C. suis* mientras que el género *Chlamydophila* reagrupa a *C. pecorum*, *C. pneumoniae*, *C. psittaci*, *C. abortus*, *C. felis* y *C. Caviae* (Everett, 2000). Durante muchos años al agente se le consideró como un virus, llamado Bedsonia (Schwabe, 1968).

1.5 Ciclo y desarrollo de *C. psittaci*

El ciclo de desarrollo consta de 5 fases:

1) Adherencia y penetración de la célula por los Cuerpos Elementales (CE). Los CE son la forma infecciosa no propagativa de la bacteria, estos miden aproximadamente 0.3 μm . Los CE penetran principalmente en las células epiteliales columnares y macrófagos mononucleares por endocitosis, formando una vesícula endocitoplásmica que permanece a través de todo el ciclo, protegido de la acción fagolisosomal del hospedero por ceramidas inhibitorias (esfingolípidos y colesterol) derivadas de la acción de la *Chlamydophila* sobre el aparato de *Golgi* de la célula huésped.

2) Transición del CE metabólicamente inerte a Cuerpo Reticular (CR). El CR mide 0.5-1.5 μm es metabólicamente activo, frágil y de baja densidad. Esta fase probablemente empieza con la desaparición de los puentes disulfuros interproteínicos de la membrana del CE, realizándose una síntesis de ADN, ARN y proteínas.

3) Crecimiento y fisión binaria de los CR. Debido a esta fisión, se producen microcolonias conteniendo de 100 a 500 organismos clamidiales por célula. Estas microcolonias múltiples son llamadas "Inclusiones".

4) Maduración de los CR no infecciosos a CE infecciosos, involucra la restauración de la superficie de la membrana y su toxicidad. Las toxinas de *C. psittaci* aún no han sido determinadas (Gerlach, 1994). El lipopolisacárido Kdo específico del parásito es transportado a la superficie de la célula hospedera concomitantemente con el crecimiento de los organismos clamidiales. Se asume que este glicolípido reduce la fluidez de la membrana plasmática, con lo cual se protegen las células infectadas de la acción de las células T citotóxicas.

5) Liberación de los CE infecciosos. Los CE infecciosos son liberados por la lisis de la célula hospedera causada por la enzima caspasa-3 del parásito. Una vez liberados los CE son capaces de parasitar a otras células (Gerlach, 1994).

C. psittaci produce la síntesis de enzimas específicas de especie, pero depende de la célula huésped para obtener energía, es lábil en el medio ambiente, pero puede sobrevivir si se encuentra en material orgánico por varios meses. Es susceptible a agentes que afectan el contenido lipídico de la pared celular, como los compuestos de cuaternarios de amonio, alcohol, peróxido de hidrógeno y nitrato de plata. Las inclusiones intracitoplasmáticas de *C. psittaci* pueden observarse con aumento de 100x en microscopio óptico, con aumentos de 800 x o más en microscopios de contraste de fases, de campo oscuro o electrónico. Con las tinciones empleadas para su observación son: color púrpura oscuro con Giemsa, azul con Castañeda, rojo con Macchiavello y Gimenez (Fudge *et al*, 1992).

Las cepas de *C. psittaci* aisladas de algunas especies aviares consisten de diferentes serotipos, los cuales pueden ser diferenciados por el huésped y su capacidad para causar enfermedad (Euzéby, 1999). Actualmente, según mencionan Vanrompay, *et al*, 1995 y Andersen, 1997, existen 8 serotipos de *C. psittaci*, los cuales pueden ser así mismo diferenciados por anticuerpos monoclonales específicos (Cuadro 2).

1.6 Especies susceptibles

Esta enfermedad afecta a las aves domésticas y silvestres, cabras, borregos, vacas, cerdos, ratones, cuyos, liebres y gatos; además del ser humano. Brand (1989), menciona que al menos 159 especies de aves son reconocidas como hospedadoras de *C. psittaci* en donde los psitácidos son las aves más susceptibles a la enfermedad, en especial las ninfas (*Nymphicus hollandicus*). Las aves jóvenes por lo general son más susceptibles a la infección que los adultos (Gerlach, 1994; Bougioklis, 2000). Según estudios hechos por Terskikh (1964), de todos los huéspedes conocidos, la paloma silvestre de las ciudades es la más común y permanente fuente de infección, debido a la elevada concentración en zonas relativamente pequeñas y por las características de la conducta de éstas aves. Se ha logrado establecer con certeza la tasa de prevalencia de la enfermedad en esta especie en un promedio del 30% de la población.

1.7 Transmisión

La transmisión de *C. psittaci* es horizontal y está determinada por la virulencia de la cepa y la susceptibilidad del hospedero; ésta se realiza por contacto directo con el animal, a través de aerosoles, por las heces, lágrimas, exudados oculares y heridas. El nuevo hospedero es infectado principalmente vía respiratoria y en menor medida digestiva. En humanos el agente infeccioso se adquiere cuando se inhalan aerosoles provenientes de excrementos secos o secreciones de las aves y otros animales infectados o por contacto directo pico-boca o el manejo de éstos. Se ha sugerido que la transmisión de la bacteria a través de huevo puede ocurrir en los Periquitos australianos (*Melopsittacus undulatus*) y ninfas (*Nymphicus hollandicus*) (Brand, 1989).

1.8 Período de incubación y Patogenia

El período de incubación (PI) es muy variable. Se ha observado que puede ser de 1 a 3 semanas o más, el período mínimo de incubación para psitácidos infectados en forma natural es de 42 días (Gerlach, 1994). El PI es determinado también por la virulencia de la cepa, la ruta y tiempo de exposición y la

susceptibilidad del hospedero. El mecanismo de adhesión de la bacteria y los receptores de la célula huésped involucrados no han sido hasta la fecha totalmente identificados. Ward (1984), en estudios con la ayuda del microscopio electrónico, sugiere dos posibles mecanismos de entrada de la bacteria. El primero incluye un proceso secuencial de fagocitosis dependiente de microfilamentos, requiriendo contacto directo entre las adhesinas y los receptores de la célula huésped (ácido N-acetylneuraminico y N-acetylglucosamina). El segundo involucra la recepción dentro de las vesículas revestidas de la proteína clatrina por el receptor mediador de endocitosis.

Los estudios de la transmisión de *C. psittaci* en pavos, han revelado que el agente se introduce por vía aérea y/o digestiva, se multiplica en los pulmones, sacos aéreos y membrana pericárdica a las 24 horas. En el torrente sanguíneo se encontró a las 48 horas; a las 72 horas las bacterias se encontraron en exudados nasales y en el contenido del colon; al cuarto día posterior a la infección la *C. psittaci* se encontraba en el corazón, pulmones y sacos aéreos, de los cuales la bacteria se eliminaba al torrente sanguíneo y era filtrada en el bazo, hígado y riñones o retornaba al medio ambiente a través de secreciones nasales y excretas (Grimes *et al*, 1979; Fudge *et al*, 1992).

1.9 Morbilidad y mortalidad

Meyer, (1942) indicó que la gran mayoría de las infecciones por clamidias eran “silenciosas”, tendiendo a persistir en los tejidos eliminando pequeñas cantidades de clamidias. La mortalidad en aves de granja se encuentra entre el 0 y 30%, mientras que la morbilidad puede alcanzar hasta el 80%. Las poblaciones de aves que conviven en una misma jaula, presentan un mayor riesgo de contagio que aquellas enjauladas individualmente. Las aves confinadas en lugares cerrados experimentan un rango muy elevado de infección que puede llegar al 100 %. Phong ,1998; McElnea *et al*, 1999).

1.10 Signos clínicos

La patogenicidad y virulencia de *C. psittaci* varían dependiendo de la cepa, condiciones de salud del hospedero, grado de exposición (frecuencia) del hospedero al agente y factores ambientales como locales cerrados y falta de higiene principalmente (Club, 1989). Debido a la mayor cantidad de pases de un huésped a otro, las cepas virulentas se replican más rápidamente y tienen un rango más amplio de aves hospedadoras que las de baja virulencia. La transmisión entre especies de aves de la bacteria puede cambiar las propiedades fisicoquímicas y, por lo tanto, la composición antigénica y, en términos de virulencia, el espectro de huéspedes de *C. psittaci* (Gerlach, 1994). En aves, la infección puede cursar en forma aguda, sub-aguda o crónica. Los signos que se presentan, pueden ser los siguientes:

En la presentación aguda, las aves jóvenes que están expuestas a cepas virulentas desarrollan infecciones sistémicas frecuentemente mortales. Los signos clínicos incluyen: plumas erizadas, hipotermia, temblores, letargia, conjuntivitis, disnea, estornudos, coriza (en pichones) y sinusitis (periquitos australianos), emaciación, deshidratación y en ocasiones, diarrea de color verde limón o gris. La muerte ocurre dentro de los 8 a 14 días. La recuperación espontánea es rara.

La infección subaguda es la más común en todas las especies aviares con baja susceptibilidad. Se presenta somnolencia, plumas erizadas, conjuntivitis, faringitis, queratitis, exudado nasal seroso o mucopurulento, disnea, anorexia y poliuria.

Los niveles hematológicos asociados con clamidiosis aviar frecuentemente encontrados son:

El hematocrito disminuido en un 20 a 30 %, cuenta leucocitaria elevada de 2 a 3 veces la normal, linfocitos con niveles deprimidos a normales, los heterófilos, monocitos y basófilos pueden estar sin cambios (Campbell, 1994). En la mayoría de las aves infectadas con *C. psittaci*, no se observan signos clínicos de enfermedad. Estas aves asintomáticas pueden transmitir la infección en forma

intermitente y se incrementa el riesgo de transmisión cuando se presentan situaciones de estrés (Club, 1989; Fudge *et al.*, 1992).

En humanos, la sintomatología puede abarcar desde conjuntivitis, resfriado sin anormalidades radiográficas, seguido de una neumonía moderada que se agrava, insomnio, desorientación, depresión mental, delirio, falla respiratoria, sepsis y shock séptico. La forma de enfermedad más grave se observa en personas de más de 50 años de edad. Las manifestaciones clínicas son muy variables: corporales: fiebre (50-90%), escalofríos, malestar general. Respiratorios: tos (50-90%) usualmente no productiva, dolor de pecho, disnea, faringitis (común), epistaxis (común). Gastrointestinales: náusea y vómito (poco común), dolor abdominal (poco común), diarrea (rara), ictericia (rara). neurológicos: dolor de cabeza severo (común), fotofobia (común), agitación y letargia. faciales: sarpullido facial.

1.11 Lesiones macroscópicas

En aves los hallazgos a la necropsia no son patognomónicos, pudiendo presentarse: conjuntivitis, inflamación catarral fibrinosa, serofibrinosa, caseosa o mucopurulenta en senos nasales, la membrana pericárdica puede estar inflamada, congestionada y cubierta de exudado fibrinoso, en los pulmones aerosaculitis con presencia de exudado fibrinoso y congestión difusa; la cavidad pleural puede contener exudado fibrinoso, hepatomegalia, perihepatitis, esplenomegalia; enteritis y peritonitis, el mesenterio puede presentar congestión vascular y exudado fibrinoso y puede haber nefrosis (Gerlach, 1994).

En humanos las lesiones observadas pueden ser infarto, embolia pulmonar y ocasionalmente efusión pleural; pericarditis, endocarditis no vegetativa y miocarditis; esplenomegalia en un 10 a 70 % de los pacientes; meningitis y encefalitis; en la piel los pacientes pueden desarrollar eritema multiforme y eritema nodosum*^{*}; en sangre puede encontrarse anemia consecuente con una hemólisis;

* Trastorno inflamatorio con formación a nivel subcutáneo de nódulos rojos y sensibles

en aparato urinario glomerulonefritis y nefritis tubulo-intersticial y en músculo esquelético: artritis poliarticular (Goupil *et al*, 1998; Kay, 1998; Farhad, 2004).

1.12 Lesiones microscópicas

Las lesiones histológicas en las especies afectadas no son específicas, excepto por la presencia de “inclusiones” intracelulares. Estos cuerpos de inclusión se pueden encontrar en varios órganos, sin embargo son especialmente frecuentes en membranas serosas. En la tráquea se puede observar infiltración de células mononucleares, linfocitos y heterófilos en la lámina propia y submucosa, los cilios pueden estar ausentes en las áreas más afectadas, neumonía epiteloide en varios grados con infiltración de células mononucleares y fibrina en los bronquios terciarios y túbulos. El pericardio presenta exudado inflamatorio e infiltración de células mononucleares y variable número de linfocitos y heterófilos. En hígado, se puede observar dilatación difusa de los sinusoides con infiltración de células mononucleares (linfocitos y heterófilos) (Brand, 1989; Ridell, 1996).

1.13 Prevención y control

La implementación de medidas de bioseguridad, precaución en el manejo de aves sospechosas, inspección clínica de las aves por médicos veterinarios calificados y cuarentenas. Para evitar inhalar aerosoles provenientes de excrementos secos o secreciones de las aves infectadas y contacto directo pico-boca, se sugiere el uso de cubrebocas, guantes, y lentes protectores para personal de plantas procesadoras, clínicas veterinarias y tiendas de mascotas. La educación de la población e información por los medios de difusión de medidas preventivas, hábitos de higiene con las mascotas aviares y vigilancia epidemiológica también son recomendables (Gerbermann, 1998).

1.14 Inmunización

Hoy en día, no existen vacunas disponibles en el comercio, debido a que la variabilidad antigénica entre cepas aviares es muy frecuente y por las reacciones adversas que pueden provocar en el huésped (Gerlach, 1994). Sin embargo, se

han realizado algunas inmunizaciones experimentales con antígenos derivados de proteínas de la membrana externa de la bacteria (plásmidos DNA) en pavos, obteniéndose un nivel de protección significativo en aves inmunizadas vía aerosol (Vanrompay ,1999).

1.15 Tratamiento

En aves de compañía y de zoológico se puede emplear doxiciclina a razón de 200 a 800 mg/litro de agua dependiendo de la especie a tratar, también clortetraciclina inyectable 75 mg/kg vía subcutánea (SC) cada tres días. La duración del tratamiento es variable entre 45 y 60 días. En aves de granja no es económicamente viable. En humanos la doxiciclina es el medicamento de elección, a la dosis de 100 mg oral cada 12 horas (Arneistein *et al*, 1968; Brand, 1989; Tully, 1993; Flammer, 1994; Thomas, 2000).

1.16 Diagnóstico

El diagnóstico de clamidiosis aviar debe llevarse a cabo con base en al menos uno de los siguientes resultados de laboratorio: a) aislamiento de *C. psittaci* de un espécimen clínico; b) identificación de antígenos de *C. psittaci* en tejidos por inmunofluorescencia; c) un aumento elevado en el título de anticuerpos de 2 muestras obtenidas con un intervalo de al menos 15 días en la prueba de ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas (ELISA), y d) identificación de inclusiones intracitoplasmáticas en macrófagos de tejidos utilizando las tinciones de Giemsa, Giménez o Machiavelo (Johnston,2000).

Para realizar el diagnóstico por aislamiento del agente en aves vivas se toman muestras con hisopos estériles de cavidad orofaríngea, exudado conjuntival y cloaca, así como de suero sanguíneo para realizar la prueba de ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas (ELISA). En aves recién muertas o sacrificadas, los órganos de elección pueden ser sacos aéreos, bazo, pericardio, corazón, hígado y riñón en formaldehído al 10% para examen histológico (American Association of avian Pathologists AAAP, 1962; Andersen *et al.*, 1998; Johnston, 2000).

Con relación a las pruebas anteriormente citadas:

a) El método de elección es el aislamiento en embrión de pollo, ya que se ha observado evidencia de que el agente se puede aislar aún estando presente en pequeñas cantidades que no pueden aislarse en cultivo celular. Para realizar este método, se emplean embriones de pollo SPF de 6 a 7 días de edad por cada muestra de ave, mediante inoculación vía saco vitelino, realizando varios pases ciegos (Daft *et al.*, 1992).

b) Prueba de Inmunofluorescencia directa.- Esta técnica demuestra antígenos específicos de grupo con la desventaja de que en ocasiones se presenta una fluorescencia no específica que complica la interpretación (Kawamura *et al.*, 1977).

c) Cultivo celular.- Este se lleva a cabo con líneas de células McCoy o fibroblastos de pollo o de ratón. Las desventajas de esta prueba son el costo, la dificultad técnica y el tiempo. El primer pase toma seis días, los segundo y tercer pases requieren tres días cada uno, así es que los tres pases requieren aproximadamente 2 semanas (Gerlach, 1994).

d) Histopatología.- Esta técnica permite la observación de inclusiones intracitoplasmáticas una vez que los tejidos sospechosos para seccionar son fijados en una solución de Zenker y teñidos con solución de Giemsa, Giménez o Macchiavello (Campbell T, 1992).

e) Prueba de Fijación de complemento.- Un complemento (generalmente obtenido de Cuyo) es necesario para que ocurra la unión entre el antígeno y el anticuerpo. Si una reacción antígeno-anticuerpo ocurre con la muestra sospechosa, entonces el complemento es fijado y no se lleva a cabo una segunda reacción con un sistema indicador Ag-Ac. Este sistema es similar a ELISA, con la diferencia de que esta última es más sensible. Por otro lado, el complemento comercial de Cuyo es inadecuado para el uso con la mayoría de las especies aviares por su incompatibilidad. Esta prueba es usada generalmente para demostrar antígenos específicos de grupo (Mohan, 1989; Woodward, 1997)

f) Reacción en cadena de la polimerasa (PCR).- Es una prueba relativamente nueva y es altamente específica, cuyo objetivo es obtener un gran número de copias de un fragmento de ADN particular, partiendo de un mínimo, en teoría de una única copia de ese fragmento. Esta técnica se fundamenta en la propiedad natural de las ADN polimerasas para replicar hebras de ADN y usa ciclos de alta y baja temperatura para separar las hebras de ADN recién formadas entre sí tras cada fase de replicación y a continuación, dejar que vuelvan a unirse a polimerasas para que vuelvan a duplicarlas. Tiene el potencial de detectar aves infectadas antes de que sean positivas por serología (Phalen, 2004).

g) Prueba de ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas (ELISA).- Esta técnica presenta las características de alta sensibilidad, especificidad, rapidez y economía. En la mayoría de sus aplicaciones, son comparables y normalmente superiores en estos aspectos a numerosas técnicas de diagnóstico y a muchas de las técnicas serológicas convencionales más sensibles como inmunofluorescencia, inmunolectroforesis y prueba de fijación de complemento. Esta prueba detecta inmunoglobulinas séricas IgG y anticuerpos IgA específicos, sin embargo, aunque el sistema es altamente sensible y fácil de operar, en ocasiones existen resultados falsos-negativos por la acción de drogas inhibitorias como cloranfenicol, penicilinas, tetraciclinas, etc. que pudieran haber sido administradas poco antes de la prueba (Sánchez –Vizcaino, 1987, Gerlach, 1994).

1.17 Diagnóstico diferencial

En aves se hace contra pasterelosis, salmonelosis, colibacilosis, micoplasmosis, influenza aviar y enfermedad de Newcastle, ya que en estas enfermedades se puede presentar un cuadro nosológico similar al de la clamidiosis aviar. En humanos el diagnóstico diferencial, incluye infección por *Coxiella burnetii*, *Mycoplasma pneumoniae*, *Legionella* spp. y virus respiratorios como Influenza, donde se observa sintomatología respiratoria en todas ellas (Arneistein *et al*, 1968; Brand, 1989; Flammer, 1994; Sommocer,2000).

El presente trabajo evaluó la ocurrencia de anticuerpos contra *C. psittaci* en aves en cautiverio, empleando una prueba inmunoenzimática en papel (ELISAP) comercial, debido a que es una prueba de diagnóstico sensible, rápida y relativamente sencilla de realizar que se ha usado para estudios epidemiológicos y diagnóstico de clamidiosis en aves en varios países (Ruppaner *et al.*, 1984; Bendheim *et al.*, 1998 y Tânia de Freitas *et al.*, 2001).

2. JUSTIFICACIÓN

En México, no se lleva a cabo en forma rutinaria el diagnóstico de clamidiosis aviar ni en aves ni en humano, posiblemente debido a que esta enfermedad está considerada como exótica, por la falta de información actualizada, o por la falta de interés hacia esta enfermedad de parte de instituciones gubernamentales sanitarias. Actualmente, el hecho de que en nuestro país se observa una tendencia a la adquisición de aves de ornato, canoras y silvestres como mascotas, similar a lo que sucede en los EEUU, sugiere la posibilidad de aumento en el riesgo de transmisión por *C. psittaci* de las aves al humano. El peligro de esta situación, radica en el hecho de que un ave con clamidiosis aviar no diagnosticada, puede permanecer como portador asintomático, transmitiendo en forma intermitente la bacteria y las personas de su entorno adquirirán eventualmente esta enfermedad.

A la fecha, aunque se ha demostrado su existencia en palomas, otras especies de aves, ovinos y caprinos (Rojas, 1996; Urquiza *et al*, 1997 y Escalante-Ochoa *et al*. 1996,1997) no existen datos en México acerca de la prevalencia y distribución de esta enfermedad en las aves de compañía y silvestres en cautiverio y en la población humana que mantiene contacto con estas aves por su actividad laboral.

3. HIPÓTESIS

Las aves nativas y exóticas de compañía y silvestres en cautiverio muestreadas en México son reservorio y fuente de infección de la *C. psittaci* para la población humana en nuestro país.

4. OBJETIVOS

Objetivo general

Determinar la presencia de la *C. psittaci* en aves de compañía y silvestres en cautiverio y su relación con la infección en humanos.

Objetivos específicos.

1.-Determinar la presencia de anticuerpos contra *C. psittaci* por medio de un ensayo inmunoenzimático comercial en papel (ELISA), en aves mascotas y silvestres en cautiverio.

2.-Determinar la presencia de anticuerpos contra *C.psittaci* en poblaciones humanas de alto y bajo riesgo que tengan contacto con las aves con un ensayo inmunoenzimático (ELISA).

3.-Determinar la presencia de *C.psittaci* en aves por medio del aislamiento en embriones de pollo y cultivo celular e identificarla mediante la prueba de inmunofluorescencia directa.

5. MATERIAL Y MÉTODOS

El trabajo de investigación se llevó a cabo en los laboratorios de Serología, Virología y Bacteriología del Departamento de Producción Animal: Aves y en el Departamento de Microbiología e Inmunología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Nacional Autónoma de México.

5.1 Sujetos en evaluación

5.1.1 Aves:

Para la obtención de las muestras, se visitaron lugares representativos de colecciones de aves como fueron: tiendas de animales identificadas como A, B y C, criaderos identificados como A, B, C y D y un zoológico, se muestrearon ejemplares que ingresaron a consulta en la Clínica de Aves de Compañía del Departamento de Producción Animal: Aves, y que consistían básicamente en mascotas familiares.

El muestreo se realizó de acuerdo a la disponibilidad de ejemplares que se tenía en ese momento para tal efecto, en cada uno de los lugares de muestreo. Los sujetos en evaluación consistieron de 150 aves domésticas de compañía y silvestres en cautiverio. De estas, 24 aves fueron sospechosas de estar infectadas con *C. psittaci* con base en datos subjetivos de signos clínicos que incluían sinusitis, neumonía y descarga ocular y/o nasal.

Los grupos de avifauna estuvieron conformados por 9 diferentes familias y 36 especies, 65 aves nativas y 85 aves exóticas, entre las que se encuentran:

Familia *Psittacidae* (n=94): guacamaya alaverde (*Ara chloroptera*), guacamaya militar (*Ara militaris*), guacamaya dorada (*Ara ararauna*), guacamaya escarlata (*Ara macao*), loro cabeza amarilla (*Amazona oratrix*) loro nuca amarilla (*Amazona auropalliata*), loro cabeza azul (*Amazona farinosa*), loro mejillas amarillas (*Amazona autumnalis*), loro gris africano (*Psittacus erithacus*), perico frente blanca (*Amazona albifrons*), perico frente anaranjada (*Aratinga canicularis*),

perico coroniblanco (*Pionus senilis*), perico del senegal (*Poicephalus senegalus*), periquito aliamarillo (*Brotogeris jugularis*), periquito australiano (*Melopsittacus undulatus*), ninfa (*Nymphicus hollandicus*), agapornis (*Agapornis roseicollis*), cacatúa (*Kakatoe galerita*); (Fig.1 a 18).

Familia *Falconidae* (n=6): aguililla cola roja (*Buteo jamaicensis*), águila real (*Aquila chrysaetos*), aguililla caminera (*Buteo magnirostris*), aguililla Cola blanca (*Buteo albicaudatus*), aguililla gris (*Asturina nitida*), caracara (*Polyborus plancus*); (Fig.19 a 23).

Familia *Cracidae* (n=8): chachalaca (*Ortalis vetula*), hocofaisán (*Crax rubra*), alcaraván americano (*Burhinus bistriatus*), pajuil (*Penelopina nigra*), pava cojolita (*Penelope purpuracens*); (Fig.24 a 28).

Familia *Ploceidae* (n=2): canario (*Serinus canaria*); (Fig.29).

Familia *Trogonidae* (n=1): quetzal (*Paromachrus moccino*) (Fig. 30).

Familia *Ramphastidae* (n=3) tucán pecho amarillo (*Ramphastos sulfuratus*); (Fig.31).

Familia *Columbidae* (n= 20): paloma mensajera (*Columba libya*); (Fig.32).

Familia *Phasianidae* (n=14): gallo de combate (*Gallus gallus*); (Fig.33).

Familia *Anatidae* (n=2): ganso común (*Anser anser*), pato doméstico (*Anas anas*); (Fig. 34 a 35).

5.1.2 Humanos:

Se muestrearon 50 personas de edades y sexos diferentes, a los cuales se dividió en grupos de poblaciones de alto riesgo y poblaciones de bajo riesgo para la determinación de anticuerpos contra *C. psittaci*.

Los grupos estuvieron conformados de la siguiente manera:

1.- Población de alto riesgo (n=25), aquellas personas que han tenido contacto directo con aves debido a su actividad: 7 médicos veterinarios, 13 trabajadores de zoológico y 5 empleados de tiendas de mascotas.

2.- Población de bajo riesgo (n=25), aquellas personas que no han tenido contacto directo con aves, ya que su actividad no tiene relación con la presencia de aves ni poseen mascotas.

5.2 Determinación de anticuerpos

5.2.1 En aves:

Colección de muestras.-Se colectaron 150 muestras por medio del corte de uña en las aves, permitiendo así obtener una gota de sangre, la cual fue absorbida en discos de papel filtro¹ precortados de 0.5 cm de circunferencia, se impregnaron 2 discos de tal manera que uno se empleó para la prueba y otro quedó como reserva. Las muestras se secaron al aire, se colocaron en bolsas de plástico en refrigeración para su traslado y procesamiento al laboratorio.

Ensayos inmunoenzimáticos (ELISA).-Para la determinación de anticuerpos se utilizó un equipo comercial¹ (“Kit”), específico para la determinación de anticuerpos contra *C. psittaci* en aves. Este consiste en una variación de la prueba de ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas (ELISA) desarrollada en papel, y es una técnica cualitativa, práctica y rápida de usar aún en condiciones de campo.

El desarrollo de las pruebas y la lectura de las mismas fueron llevadas a cabo de acuerdo a las instrucciones del manual proporcionado en el mismo equipo.

5.2.2 En Humanos.

Colección de muestras.- Las muestras n=50 se obtuvieron por medio de punción en el dedo índice (previo lavado y desinfección del área con alcohol), con un equipo comercial para este efecto², permitiendo así obtener una gota de sangre, la cual fue absorbida en discos de papel filtro precortados, se impregnaron 2 discos de tal manera que uno se empleó para la prueba y otro quedó como

¹ ImmunoComb® Antibody test kit for Avian Chlamydophila psittaci (Biogal –Galed Labs. Kibbutz Galed, Israel)

² Accu-check® Softclick® Ce0800 Roche Diagnostics Hoffmann-La Roche Ltd, Basel, Switzerland.

reserva. Las muestras se secaron al aire, se colocaron en bolsas de plástico y refrigeración para su traslado y procesamiento en el laboratorio.

5.2.3 Ensayo inmunoenzimático (ELISA)

Se utilizaron sueros positivo y negativo a anticuerpos contra *C. psittaci* como controles para la prueba de ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas (ELISA). El suero positivo* correspondió a un mujer adulta, con manifestaciones clínicas respiratorias y la cual tuvo un diagnóstico de laboratorio positivo al cultivo de *C. psittaci*. El suero negativo[&] perteneció a un niño clínicamente sano con serología negativa a hepatitis “C”, brucela, rubéola, parotiditis y enfermedad de Chagas.

Los sueros de las poblaciones de humanos de alto y bajo riesgo, se analizaron utilizando parte del mismo “Kit” (ELISA) que se empleó para la determinación de anticuerpos en aves con modificaciones en el conjugado y el sustrato empleados.

Se depositaron las muestras de sangre adsorbidas en los discos de papel filtro y 5 µl de los sueros controles en la primera hilera de pozos de la placa de trabajo¹ se incubaron por 60 minutos para permitir la extracción del suero. El mismo tipo de “peine” con el antígeno *C. psittaci* que se empleó en la prueba de aves, se utilizó para esta técnica. Una vez pasado el tiempo de incubación, se introdujo el “peine” en la primera hilera de pozos de la placa de trabajo y se permitió incubar por espacio de 20 minutos se lavó con agua corriente y se colocó en el siguiente pozo que contenía una solución buffer fosfato con tween (0.05%) por 2 minutos.

Transcurrido lo anterior, el “peine” se introdujo en los pozos de una microplaca de prueba de fondo plano³, la cual contenía 200 µl de conjugado

* Suero donado por Departamento de Microbiología e Inmunología, FMVZ-UNAM

& Suero donado por Hospital de Pemex (Picacho).

³ Becton-Dickinson and Company, New jersey 07035 USA

alcalino fosfatado de conejo anti IgG de humano (H+L)⁴ en dilución 1:5000 con agua destilada estéril en cada pozo.

Se incubó por 20 minutos, para permitir que los anticuerpos ligados quedaran marcados con la enzima. El “peine” se lavó con agua corriente por 5 segundos eliminando el exceso de líquido con papel desechable, y se procedió a introducirlo en los siguientes pozos que contenían una solución de lavado de buffer fosfato con tween (0.05%) en un volumen de 200 µl por 2 minutos.

A continuación, el “peine” se insertó en la microplaca de prueba en los pozos con 200 µl de sustrato P-Nitrofenil fosfato alcalino fosfatado (p-NNP)⁵ por 10 minutos. Aquí fue donde la reacción enzimática ocurrió, generando la aparición de color en los pozos indicando la presencia de anticuerpos.

El paso final fue colocar la placa de prueba en el espectrofotómetro⁶ a una longitud de onda de 450 nm, determinando así la densidad óptica (absorbancia) para cada pozo. Para la determinación de los parámetros de la prueba de ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas (ELISA) se utilizó el método descrito por Ruppaner *et al*, (1984) y Sánchez *et al*, (1987).

5.3 Aislamiento de *C. psittaci* en embrión de pollo y cultivo celular.

5.3.1 Colección de muestras

Para el aislamiento de *C. psittaci* se tomaron muestras de hisopos de cloaca, conjuntiva y senos nasales a las aves. Los hisopos se colocaron en 2 ml de medio de transporte SPG (Sucrosa⁷, Fosfato⁷ y Glutamina⁷) adicionado con 10 % de suero fetal bovino⁸ y 100 mg/ml de Estreptomicina⁷, 100 mg/ml de

⁴ Alkaline phosphatase – conjugated Affinipure Rabbit Anti – Human IgG (H+L) Jackson immunoresearch laboratories Inc 800-367 5296 ,USA

⁵ p-nitrophenyl phosphate (p-npp) alkaline phosphatase substrate. chemicon International, Inc. Temecula ,CA 92590

⁶ Dynatech laboratories, Inc. MR650, VA 22314, USA

⁷ Sigma Chemical Co. ST. Louis MO. 63178. USA.

⁸ In vitro Cerecon Ltd. West moorepark CA, 93201 USA.

Kanamicina⁷, 50 mg/ml de Vancomicina⁷ y 50 mg/ml de Nistatina⁷, y se transportaron en hielera con refrigerantes, manteniéndose en refrigeración a 4° C en el laboratorio (Daft *et al*, 1992).

5.3.2 Aislamiento en embrión de pollo.

El aislamiento del microorganismo se realizó en el 21% (32/150) de los animales muestreados, utilizando tanto embrión de pollo como cultivo celular, con base en la disponibilidad del medio biológico. Para la preparación del inóculo se realizó una mezcla de las muestras colectadas de cloaca, conjuntiva y senos nasales para cada ave.

Se emplearon 5 embriones de pollo comerciales y SPF indistintamente, de 6 a 7 días de edad por cada una de las 17/32 muestras de aves. La ruta de inoculación fue por vía saco vitelino con una dosis de 0.2 ml de suspensión sospechosa. Los embriones se mantuvieron en incubación a 37° C y se les realizó ovoscopia diariamente durante 10 días, observando si existía mortalidad entre los 3 a 10 días postinoculación. Los embriones que murieron antes de 48 horas fueron descartados y los que murieron después del 3^{er} día, se les practicó embriodiagnóstico, buscando lesiones sugestivas de clamidiosis como congestión vascular del embrión y de la membrana del saco vitelino. En los casos en que los embriones de las muestras inoculadas no murieron antes de los diez días, se les procedió a realizar dos pases ciegos más antes de designar la muestra como negativa. De los embriones muertos con lesiones se obtuvo la membrana vitelina, la mitad de cada una de ellas se almacenó en congelación a - 20°C para su uso en posteriores pases en caso de que fuera necesario y la otra mitad se empleó para su observación al microscopio con tinción de Giemsa (Daft *et al.*, 1992).

5.3.3 Tinción

Para la observación de las inclusiones intracitoplasmáticas típicas de *C.psittaci* al microscopio óptico, se separaron las membranas vitelinas en condiciones de esterilidad y con ellas se realizaron improntas en portaobjetos las cuales fueron teñidas con Giemsa. Las improntas se fijaron en solución de Bouin

(250 ml de formalina⁹ al 30-40% y 50 ml de ácido acético glacial⁹) por 5 minutos. Posteriormente se realizaron 3 lavados con intervalos de 5 minutos en alcohol etílico⁹. Se tiñeron por espacio de 30 minutos con solución de Giemsa, diluida en solución buffer- fosfato 0.1M con pH 6.0. Se decoloraron lavándolas con solución buffer- fosfato pH 6.0 en dos intervalos de 5 minutos (Lillie RD, 1943). Se secaron las improntas al aire y se examinaron microscópicamente en busca de inclusiones intracitoplasmáticas, los cuales presentaron una coloración púrpura-rojiza (Figuras 36 y 37).

5.3.4 Cultivo celular

Las muestras de orofaringe y cloaca de otras 15/32 aves se utilizaron para el asilamiento de *C. psittaci* en cultivo celular.

Se utilizaron monoestratos celulares con la línea L-929⁸ de fibroblastos de ratón contenidos en botellas de poliestireno a una concentración de 1.1×10^5 cels/ml, utilizando medio MEM⁸ modificación Eagle's adicionado con 10 % de suero fetal bovino⁸ y 100 mg/ml de estreptomycin⁷, 100 mg/ml de kanamicina⁷, 50mg/ml de gentamicina⁷ y 50 mg/ml de nistatina⁷, 1 % de aminoácidos no esenciales⁸ y 1 % de L- glutamina⁸. Los cultivos se incubaron en atmósfera húmeda a 37° C con 5 % de CO₂.

Posteriormente, las células se tripsinizaron con una solución de tripsina al 0.01%⁸ y subcultivaron en microplacas de 96 pozos¹⁰ de fondo plano que contenían en su interior un cubreobjetos de 4 mm de diámetro a una concentración de 0.12×10^5 cels / 150 ml / pozo, utilizando el medio de cultivo ya descrito. Las microplacas fueron incubadas a 37°C y 5 % de CO₂ en una atmósfera húmeda, hasta obtener un 60-70 % de confluencia celular, momento en el cual se procede a la infección como se indica a continuación

Se retiró el medio de cultivo de las microplacas y se adicionaron 30 µl / pozo de los inóculos infectantes previamente diluidos al 50% en medio SPG (Sucrosa⁷, Fosfato⁷ y Glutamina⁷) utilizando 3 pozos / muestra. Las microplacas se

⁹ J.T.Baker S.A. de C.V. 55320, México

¹⁰ Nunclon Delta, Inter. Med. Nunc. 84037 Dinamarck .

incubaron 1 hora a 37°C en atmósfera húmeda con 5 % de CO₂ con agitación suave (~ 50 rpm/min) tras lo cual se les adicionaron 120 µl de medio MEM a cada pozo. Posteriormente, se incubaron durante 48 horas bajo las mismas condiciones previamente mencionadas.

5.3.5 Inmunofluorescencia

Las improntas en portaobjetos de las muestras sospechosas se prepararon para llevar a cabo la detección de las inclusiones características de *C. psittaci* por medio de la técnica directa de inmunofluorescencia de acuerdo al método descrito Vanrompay *et al*, (1994), utilizando un kit comercial ¹¹

Las preparaciones se fijaron en un portaobjetos con 1.0 ml de acetona⁹ por 10 minutos. Se removió la acetona lavando 2 veces con PBS estéril PH 7.4 por dos minutos, después de lo cual se adicionaron 100 µl de una dilución 1/100 del conjugado anti-Clamidia¹¹ sobre los portaobjetos.

Posteriormente se incubaron las preparaciones en cámara húmeda a 37°C por 30 minutos. El conjugado se removió lavándolo con solución buffer-fosfato pH 7.5 y con solución de azul de Evans¹² al 0.005% para contraste. Los portaobjetos se montaron con 6 µl de resina y se examinaron bajo el microscopio de luz ultravioleta¹³ 40 x, para la observación de fluorescencia de las inclusiones intracitoplasmáticas las cuales se presentaron como inclusiones verde brillante en el citoplasma de las células.

En el caso de resultados negativos, fueron realizados dos pases ciegos más usando otros monoestratos infectados. La liberación de los CE fue por medio de congelación a -20°C por 15 horas y descongelados posteriormente. 100 microlitros de la suspensión fueron inoculados en monocultivos no infectados como se describió anteriormente.

¹¹ Imagen Chlamydia test (Dako Diagnostics Kit-dak-k 610111, Ely, Cambridgeshire CB7 4ET, U.K.)

¹² GIBCO. Limited PO BOX 35 Pasley. Scotland,U.K.

¹³ Microstar IV Leicaa.IncBannockbung,IL 60015 U.S.A.

Las muestras se consideraron negativas cuando no se observaron inclusiones clamidiales después de dos pases ciegos.

5.3.6 Análisis Estadístico

Los valores de la serología en aves y humanos, fueron evaluados por la prueba de Ji cuadrada y de comparación entre proporciones de grupos. Se utilizó el programa estadístico computacional SAS[®].

Se analizó el riesgo atribuible (importancia médica) y el riesgo relativo (asociación epidemiológica) para las poblaciones de humanos de alto y bajo riesgo (Vargas, 2000).

6. RESULTADOS

6.1 Resultados obtenidos mediante la prueba inmunoenzimática (ELISA), aislamiento en embrión de pollo, cultivo celular e inmunofluorescencia directa para *C. psittaci* en diferentes especies y orígenes de aves.

a). Los hallazgos de la serología muestran un alto índice de de animales que han estado en contacto con *C. psittaci*, observándose un 58 % (87/150) de seroreactores positivos (Cuadro 3).

Particularmente dentro de las familias estudiadas se encontraron los siguientes porcentajes de aves rectoras positivas:

Familia *Psittacidae* 58 %, fam. *Falconidae* 0%, fam. *Cracidae*, 53.2 %, fam. *Ploceidae* 0 %, fam. *Trogonidae*, 100%, fam. *Ramphastidae* 33 %, fam. *Columbidae* 30%, fam. *Phasianidae* 100 % y fam. *Anatidae* 50 %.

Con respecto a las especies de aves de la familia *Psittacidae* la mayoría de las cuales se encuentran dentro de las favoritas en calidad de mascotas, se observó que 77.7 % (14/18) resultaron positivas a anticuerpos.

b). De acuerdo al origen de las aves se obtuvieron los siguientes porcentajes de seroreactores positivos:

Criaderos 58.4 % (31/53), clínica 50% (11/22), tiendas 48.1% (13/27) y zoológico 66.6 % (32/48)

c). Con relación al estado clínico de las aves muestreadas, se obtuvo 96% (24/25) de seropositividad en aves con signos respiratorios y 45.1 % (56/125) de rectoras positivas en aves aparentemente sanas (Figura 1) .

d). En lo que respecta al aislamiento e identificación de *C. psittaci* se obtuvieron resultados positivos en 80% (28/32) de las aves muestreadas. Por familia se obtuvieron los siguientes porcentajes: *Psittacidae* 64% (18/28), *Cracidae* 10.7 % (3/28), *Trogonidae* 3.5% (1/28) *Columbidae* 17.8% (5/28) y *Anatidae* 3.5 (1/28) de aves positivas (Cuadro 4). Con relación al estado clínico de las aves se

encontró 94.7% (18/19) positivas al aislamiento en aves con signos respiratorios, mientras que en aves aparentemente sanas el porcentaje fue de 84.6 % (11/13).

De acuerdo al origen, se encontró el siguiente porcentaje de aves positivas al aislamiento de *C. psittaci* 57.4 % (16/28) en zoológico, 7.1% (2/28) en clínica y 35.5% (10/28) en criaderos.

6.2 Resultados obtenidos en muestras de sueros de humanos por medio de la prueba de ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas (ELISA) para la detección de anticuerpos contra *C. psittaci*.

El control positivo utilizado para la técnica ELISA presentó un valor de 0.519 (lectura de absorbancia 405 nm), así mismo; la media del control negativo correspondió a 0.128. El punto de corte se determinó en el doble del resultado de la media de los valores del suero negativo en 0.257.

Los valores de absorbancia obtenidos fueron convertidos a porcentaje de ELISA (% ELISA = absorbancia del suero de prueba ÷ absorbancia del control positivo), todas las muestras que resultaron ≥ 50 (% ELISA) fueron consideradas positivas.

En el grupo de humanos de alto riesgo se obtuvieron 16/25 positivos lo que resulta en un 64% para este grupo, mientras que el de humanos de bajo riesgo se determinaron 2/25 positivos o sea 8 % del total de muestreados de este grupo (Figura 2).

6.3 Análisis estadístico.

Se obtuvieron los índices de probabilidad de incidencia de la clamidiosis en aves de acuerdo al lugar de muestreo encontrándose diferencias estadísticas en tienda y en zoológico ($p=0.0475$ y $p=0.0401$ respectivamente). En el caso de la clínica y criaderos no existieron diferencias estadísticas entre aves positivas y negativas muestreadas en estos sitios ($p<0.1885$ y $p<0.3859$ respectivamente).

El porcentaje de riesgo de contagio / infección entre las aves de cada sitio es de: 38.6 % para criaderos, 17.5 % para tiendas, 29.9 % para el zoológico y, 13.8 % para la clínica.

En lo que respecta a los humanos, se obtuvieron las proporciones y probabilidades entre poblaciones de alto y bajo riesgo y grupos por lugar de muestreo.

Las personas que manejan aves (población alto riesgo) presentan una probabilidad estadística mayor (27.12%) de adquirir la enfermedad que la población de bajo riesgo que ocasionalmente pudiera estar en contacto con aves (3.8%). De igual manera aquellas personas que trabajan en el zoológico tienden a contagiarse (probabilidad de infección) con mayor frecuencia (17%) que los que trabajan en tiendas (3.3%) (Cuadros 5 y 6).

El riesgo atribuible se estimó en 14% mayor para la población de alto riesgo con respecto a la de bajo riesgo.

El riesgo relativo estimado para la población de alto riesgo de adquirir la infección en relación a la población de bajo riesgo fue de 8 veces más.

7. DISCUSIÓN

La Clamidiosis aviar es considerada en la actualidad una enfermedad exótica en México por parte de la Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (SAGARPA). Esto significa que no se reconoce oficialmente su existencia en nuestro país. Sin embargo, y a pesar de esto existen estudios en donde se ha demostrado su presencia en varias especies de aves tanto nativas como exóticas, en nuestro país (Meyer, 1965; Rojas, 1996; Urquiza *et al*, 1997).

Meyer (1965), realizó un muestreo serológico en los años de 1951 a 1955 en México con palomas silvestres obteniendo por fijación de complemento 5/398 positivas a anticuerpos contra *Chlamydia*, pero no llevó a cabo el aislamiento de la bacteria.

Posteriormente el diagnóstico de *C. psittaci* en aves en México, ha sido realizado usualmente mediante el aislamiento del microorganismo, sin embargo, como lo menciona Urquiza *et al.*, (1997), “que debido principalmente al hecho de que no se cuenta con técnicas de diagnóstico rápidas y efectivas; se hace imperiosa la innovación de técnicas rápidas y de bajo costo si se quiere realizar investigación epidemiológica para conocer la incidencia de esta enfermedad y tener programas para su control”.

Por otro lado, según lo mencionado por Grimes (1979) y Johnston (2000), es necesario el uso de una combinación de métodos de diagnóstico para obtener resultados confiables debido a la naturaleza variable de las infecciones causadas por clamidiosis aviar. Para confirmar el diagnóstico serológico, es importante realizar un muestreo posterior (“pareado”) en donde se observe un incremento considerable del título o utilizando la combinación de prueba serológica e identificación del agente. De acuerdo con lo anterior en este estudio el diagnóstico en las aves muestreadas se uso la combinación de diferentes técnicas como fueron serología, aislamiento de la bacteria en embrión de pollo, aislamiento en cultivo celular e inmunofluorescencia.

Ruppaner *et al*, (1984), mediante el uso de la prueba inmunoenzimática (ELISA), determinó un 51% de aves positivas a anticuerpos contra *C. psittaci* en su estudio, mientras que Gerlach, (1994) citó una proporción de entre 30 a 70% de seropositividad en aves en cautiverio y silvestres. Los resultados en el presente trabajo arrojaron un 58% de ejemplares aviares positivos con la misma técnica, porcentaje que guarda similitud con los arriba mencionados.

Brand (1989), en un muestreo obtuvo 75 % de especies positivas en ELISA, mientras que Ruppaner *et al*, (1984), determinó el porcentaje de especies positivas en su investigación en 74%. Brand, así mismo, menciona que el papel de muchas especies de aves como huéspedes o reservorios de *C. psittaci* está bien establecido y que aves positivas serológicamente con cuadro clínico de signología respiratoria es sugerente de que se encuentran sufriendo una infección de clamidiosis aviar con curso semiagudo,

Por otro lado, en el caso de los ejemplares negativos 63/150 (42%) los resultados sugieren que estas aves no habían tenido contacto con el agente etiológico o bien que pudieran ser ejemplares conocidos como falsos negativos, ya que no existe seroconversión en una infección aguda (Meyer, 1942; Burkhardt, 1971).

Page (1985) indica que las aves infectadas crónicamente, tienen con frecuencia títulos elevados como consecuencia de que han sido estimuladas antigénicamente durante largo tiempo. A este respecto en el presente estudio se encontraron signos respiratorios atribuibles a clamidiosis aviar en 25/150 de las aves muestreadas y 24 de estas fueron positivas a anticuerpos contra *C. psittaci*, sólo una de ellas no presentó seropositividad, debido probablemente al hecho de que el padecimiento pudo haber sido causado por alguna otra entidad nosológica o pudiera ser una infección aguda.

Gran parte de la población de aves muestreada en este estudio (63/125) se encontraban aparentemente en buen estado de salud. Sin embargo, más de la mitad (50.4%) presentaron seropositividad. Ruppaner *et al.*, (1984) y Gerlach, (1994), mencionan que la detección de anticuerpos contra *C. psittaci* se presenta

dos semanas posteriores a la infección, pero pueden ser detectadas hasta después de pasado mucho tiempo (>1 año), de tal manera que un ave positiva serológicamente, no necesariamente indica que este sufriendo una infección en curso pero si que sea portador sano.

En este estudio la familia de las psitácidas, representó el grupo de especies más numeroso con 94 ejemplares de 18 especies. Posiblemente debido a que en todos los lugares muestreados se encontraban, ya que es considerado el género con mayor demanda como mascota.

Page (1985), menciona que Investigaciones llevadas a cabo entre las poblaciones de aves que se tienen en cautiverio en zoológicos, criaderos, colecciones particulares y mascotas, sugieren que el rango de portadores en las psitácidas se encuentra entre un 10 al 40 % hasta el 100%, siendo los más susceptibles a la enfermedad. Los resultados obtenidos en este estudio muestran para este género de aves una seropositividad a *C. psittaci* de un 58 % del total, porcentaje comparable con lo mencionado por diversos autores (Page, 1985; Bendheim *et al.*, 1998 y Tânia de Freitas *et al.*, 2001).

En los resultados del hallazgo de anticuerpos contra *C. psittaci* por origen de las muestras se encontró que en el criadero “A” de la especie ninfa (*Nymphicus hollandicus*) que es de tipo familiar, las aves son atendidas directamente por la propietaria con un buen manejo e higiene de las instalaciones, no entran aves de fuera y cuentan con atención veterinaria. Las 8 aves muestreadas se encontraban negativas a la presencia de anticuerpos y aparentemente sanas, lo cual esta relacionado directamente con el ambiente sano en el que se encuentran, mismo que de acuerdo a la evidencia serológica sugiere que esta libre de la presencia de clamidiosis aviar. Sin embargo, se requiere de subsecuentes muestreos para tener un diagnóstico confirmativo, dado que esta especie es una de las más susceptibles de adquirir este microorganismo.

Con relación al criadero “B”, en este lugar se reproducen diferentes tipos de psitácidos entre ellos loro gris africano (*Psittacus erithacus*), ninfa (*Nymphicus hollandicus*) y cacatúas (*Kakatoe galerita*), cuyas instalaciones consisten en un

local cerrado donde se encuentran las aves en sus jaulas, la higiene y el manejo son deficientes y no se cuenta con asesoría médica. Se muestrearon 11 aves, las cuales presentaban signos respiratorios. Todas las aves muestreadas resultaron positivas a anticuerpos y es posible que todas las aves de este criadero se encuentren infectadas con *C. psittaci*, como lo menciona McElnea *et al.*, (1999), por el hecho de que las aves se encuentran en un lugar confinado, con mala nutrición, alta densidad de población, escasa ventilación e higiene y por lo tanto sometidas a factores estresantes con una consecuente disminución de la capacidad inmunológica de las aves.

Las aves del criadero "C" correspondieron a 14 gallos de combate (*Gallus gallus*), en este caso no se obtuvieron mayores datos acerca de las condiciones del criadero ya que las aves fueron importadas y remitidas al DPPA: A de la FMVZ-UNAM para diagnóstico. Los resultados del muestreo serológico arrojaron 100 % de positividad, lo que coincide con lo hallado por Meyer, (1942) en un muestreo para este género de aves. En el caso de las aves importadas los requisitos zoonosanitarios para la importación de aves la SAGARPA son: presentar certificado oficial expedido por un Médico Veterinario oficial del país de origen en el que se indique que las aves permanecieron en cuarentena bajo control oficial durante los 30 días previos a su exportación, que al examen clínico previo a la exportación, las aves se encontraron sanas y libres de ectoparásitos, que en el lugar de origen no se han presentado casos de bronquitis infecciosa, laringotraqueitis, viruela, gumboro, marek, micoplasmosis, psitacosis, coriza, encefalomiелitis y leucosis durante los 60 días anteriores a la fecha del embarque. En este caso no fue posible determinar si las aves estuvieron en contacto con el agente antes o después de entrar al país.

Trabajos realizados por Terskikh, (1964); Ruppaner *et al.*, (1984), y Brand (1989), informaron que existió el 30 % de seropositividad para aves de la familia Columbidae. Los resultados de este estudio en el criadero "D" que correspondió a un palomar recién implementado con aves adultas y jóvenes en su mayoría de nuevas nidadas, muestran 6/20 ejemplares positivos que representa un 30%

coincidiendo con lo obtenido por los autores arriba mencionados, lo que sugiere que es posible que algunas aves reproductoras procedentes de otro palomar sean portadoras de la bacteria y lo estén transmitiendo por las heces o al alimentar a las crías. Gerlach, (1994) indica que son comunes los brotes de clamidiosis aviar en crías de padres infectados asintomáticos.

En el caso de las aves muestreadas en la clínica de aves de compañía y que consistían de aves que se encuentran en los hogares de los propietarios como guacamayas, loros, canarios, patos y aves rapaces; se encontró que de 22 aves muestreadas 11 resultaron seropositivas. Todas las aves exceptuando un loro frente blanca (*Amazona albifrons*) el cual presentaba un franco cuadro respiratorio grave, se encontraban sin manifestaciones clínicas de enfermedad respiratoria sugerentes de clamidiosis aviar. Sin embargo, como menciona Page (1985) es probable que la mayoría de las aves tengan un curso insidioso y de escasas manifestaciones clínicas durante un largo período de tiempo llegando a ser portadoras crónicas.

La presencia de seropositividad en el 50% del total de las aves muestreadas en la clínica, sugiere que independientemente de las circunstancias estas estuvieron en algún momento expuestas a la bacteria y que son potencialmente peligrosas para los dueños, sobre todo porque aquellos desconocen el riesgo y las medidas preventivas y/o curativas para esta zoonosis. La tasa de portadores crónicos asintomáticos en el caso de los psitácidos que viven en hogares particulares se ha estimado de un 10 a 40 y hasta 100% (Rojas, 1996).

Con relación a las tiendas de animales, las instalaciones, el manejo, la higiene, la concentración y la alimentación de las aves es similar en todas ellas. Por lo general, el área destinada a las aves consiste en un lugar cerrado, estrecho, poco ventilado y húmedo en donde las aves se encuentran en jaulas o en encierros contiguos donde la entrada de estas comunica a un pasillo común, la limpieza se realiza diariamente con agua y jabón, ocasionalmente se aplica un desinfectante, generalmente cloro.

La inspección de las aves se realiza en forma visual, no existiendo la toma de muestras para laboratorio. Las aves enfermas permanecen en la misma área que las sanas promoviéndose de esta manera la diseminación de microorganismos patógenos a toda la parvada.

En este estudio se obtuvieron resultados positivos a anticuerpos contra *C. psittaci* en 13/27 aves (48%) de todas las tiendas, lo que sugiere que dadas las condiciones de confinamiento cada parvada de las diferentes tiendas ha estado en contacto en mayor o menor proporción con esta bacteria.

El diagnóstico y control de la clamidiosis aviar es una práctica común en los zoológicos de varias partes del mundo (Johnston, 2000). Aún así, no están exentos de sufrir brotes como el más reciente reportado ocurrido en mayo de 2005 en EE.UU., en donde cerca del 80% de la población de pingüinos estuvo afectada por esta enfermedad (Anónimo, 2005).

En ningún zoológico de nuestro país existe este diagnóstico ni control y se desconoce la prevalencia de la clamidiosis aviar en las colecciones de aves. En lo que respecta al zoológico muestreado en este estudio, las instalaciones de exhibición, cuarentena y clínica son las adecuadas para una gran concentración de aves como es la que tiene este centro. Se cuenta con un laboratorio de diagnóstico pero no se practican las técnicas para detección de la clamidiosis aviar. El manejo y supervisión médica son llevadas a cabo por personal profesional y capacitado.

En el análisis serológico por medio de la prueba inmuoenzimática efectuado en el zoológico antes mencionado, se obtuvieron 32/48 (66.6 %) aves positivas de diferentes especies, se desconoce la cantidad de ejemplares aviares de este lugar. Una de las vías de entrada de la enfermedad en este lugar pudieron ser las aves de recién ingreso cuarentenadas, las cuales posiblemente estarían sufriendo de un cuadro de clamidiosis aviar subclínico debido a diversos factores de estrés propio de aves capturadas, en vías de comercialización o decomiso (Meyer, 1942). Si estas aves sobreviven sin problemas a la cuarentena y debido a que no se

realiza el diagnóstico contra clamidiosis aviar serán consideradas sanas y trasladadas al área de exhibición en donde difundirán la enfermedad.

Con respecto al análisis estadístico de los resultados por serología en el muestreo realizado en este estudio, se determinó que la probabilidad de incidencia de la clamidiosis aviar entre las aves de tienda y zoológico registró diferencias estadísticas significativas entre aves negativas y positivas, lo cual indica que existe mayor proporción de aves infectadas que aparentemente sanas en estos sitios de muestreo. En el caso de la clínica y los criaderos no existieron diferencias significativas entre aves positivas y negativas.

Page (1985), indica que la presencia de anticuerpos en las aves, sugiere que estas estuvieron en algún momento expuestas al antígeno clamidial y que el valor del título es sólo una indicación de la importancia del estímulo antigénico, pero no es indicativo de que el ave se encuentre en ese momento padeciendo la enfermedad o eliminando el agente etiológico. Burkhart *et al*, (1971), mencionan que el diagnóstico serológico de la clamidiosis en aves individuales, exige demostrar una elevación cuádruple en el título de anticuerpos circulantes y sin embargo, desde el punto de vista de parvada si la mayoría presentan anticuerpos la probabilidad de aislar el agente es elevada.

Con base en lo anterior y para tratar de determinar si la bacteria se encontraba presente, en este estudio se realizó el aislamiento de ésta en el 21 % (32/150) de los ejemplares aviares. De acuerdo con los resultados de este trabajo se obtuvo 80% (28/32) de ejemplares positivos al aislamiento. Se encontró que 18/19 aves con signos respiratorios resultaron positivas, lo que probablemente indica que se encontraban padeciendo alguna etapa de la infección en ese momento que al existir una infección respiratoria por otra causa, condicionó una mayor susceptibilidad a la *C. psittaci*.

Respecto a la otra ave con signos respiratorios la cual fue negativa al aislamiento, es posible que la signología fuera ocasionada por algún otro agente patógeno o como sugiere Gerlach (1994), que las aves pueden ser portadores subclínicos y cesar la eliminación de la bacteria dentro de los 30 a 50 días

después de haber sufrido la infección lo que pudo haber ocurrido con esta ave. Tânia de Freitas *et al.*, (2001) refieren que resultados negativos en el aislamiento pueden deberse a que el ave no se encuentre eliminando el agente debido a la naturaleza intermitente de la infección o a que el número de microorganismos sea muy bajo.

Meyer, (1942), Brand (1989) y McElnea *et al.*, (1999) entre otros investigadores, refieren el hecho de que el agente puede usualmente ser detectado en heces aproximadamente 10 días antes del inicio de los signos clínicos y que aves con infecciones latentes o aquellas con una historia clínica de exposición previa, tienen cierto grado de resistencia pudiendo eliminar el organismo por varios meses permaneciendo asintomáticas. De las 11/13 aves aparentemente sanas, que resultaron positivas al aislamiento de *C. psittaci* a partir del inóculo (mezcla de las muestras de cloaca, orofaringe y conjuntiva) sugiere de que algunas de estas aves posiblemente sean portadores sanos, mientras que otras quizá aun no crucen el horizonte clínico de la enfermedad y por lo tanto no presenten signos. Por otro lado, con relación a las 2 aves aparentemente sanas negativas al aislamiento, los resultados indican que posiblemente estén libres de la presencia del agente infeccioso sin embargo, sería necesaria la realización de análisis subsecuentes para poder declararlas libres de la enfermedad.

La técnica empleada de diagnóstico inmunoenzimático, permitió en el presente estudio obtener resultados en forma rápida de gran cantidad de aves. Por lo tanto, podría ser utilizada como una prueba preliminar complementaria de otras en los diferentes zoológicos, laboratorios de diagnóstico animal, criaderos y explotaciones comerciales para establecer tasas de prevalencia de la infección en poblaciones aviares de nuestro país por medio de un sondeo periódico, dando especial atención a aquellas especies que son numerosas y conviven permanentemente con el humano.

Por otro lado, el más reciente listado de hospedadores de la bacteria involucra 160 especies de aves de diferentes familias y órdenes (Tânia de Freitas

et al., 2001). En este estudio se determinaron 4 especies de aves nativas de México portadoras que no han sido reportadas, entre las que se encuentran miembros de la familia *Cracidae*: Hocofoisán (*Crax rubra*), Pajuil (*Penelopina nigra*) y Pava cojolita (*Penelope purpuracens*) y de la familia *Trogonidae*: Quetzal (*Paromachrus moccino*), por lo que el listado se incrementa a 164 especies portadoras.

Según informes de Espinosa de los Monteros *et al.*, (2005); Travis *et al.*, (2006); Herrman *et al.*, (2006); Cremoux *et al.*, (2006), Hass *et al.*, (2006) y Greco *et al.*, 2006, la clamidiosis aviar se sigue presentando en la actualidad en todo el mundo afectando a personas y animales. En México no se han reportado casos individuales o múltiples de clamidiosis aviar en personas, lo que quizás se deba al hecho de una mala interpretación de los médicos sobre las causas de problema respiratorio causado por esta enfermedad, más que por su ausencia. No obstante, se ha referido que existen situaciones no documentadas en las que personas que han tenido contacto con animales con clamidiosis ocular han presentado cuadros nosológicos sugerentes de esta zoonosis*.

Como se ha mencionado anteriormente en este estudio, en México no hay ningún tipo de datos relativos a esta zoonosis como existen en otros países. Para determinar la presencia de anticuerpos contra *C. psittaci* en humanos en esta investigación, se analizaron los sueros de dos poblaciones utilizando un ensayo inmunoenzimático en papel (ELISA) modificado. En este estudio el análisis de los sueros en humanos se realizó con una sola muestra por persona, con el objetivo específico de demostrar la existencia de anticuerpos contra *C. psittaci*, sin la intención de establecer el estatus clínico de las personas muestreadas con respecto a la infección por clamidiosis aviar.

Los resultados del presente trabajo sugieren que de acuerdo a la presencia de anticuerpos, 64% de los humanos de la población de alto riesgo y 8 % de los de bajo riesgo han estado en contacto con el microorganismo. Yamnikova *et al.*,

* Dra. Cristina Escalante, Comunicación personal

(2000), determinaron la presencia de anticuerpos contra *Chlamydia psittaci* en 350 sueros de humanos obteniendo una seropositividad por la prueba de ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas (ELISA) en un 58.6 %.

Lo anterior sugiere que el trato directo o indirecto con aves portadoras de *C. psittaci* origina el estímulo antigénico contra el microorganismo (Bourne, 2003 y Dovic *et al*, 2005), existiendo una relación significativa entre presencia de anticuerpos y actividad profesional. En el humano como en los animales el hecho de poseer anticuerpos no es indicativo de que se haya sufrido un cuadro de clamidiosis aviar con manifestaciones clínicas, ya que en la gran mayoría de los casos en personas estas son inaparentes.

Existen factores predisponentes para la presentación de la infección por *C. psittaci* en el ser humano (Ward, 1984), principalmente por causa de inmunodeficiencia atribuible a enfermedades, malnutrición, debilidad, períodos prolongados de estrés, etc. La infección se puede presentar en adultos de edades entre 30 a 60 años.

Gerlach (1994), refiere que en apariencia, el contacto de una persona con un ave portadora de *C. psittaci*, es especialmente de riesgo en el caso de que el agente haya cambiado su composición antigénica debido a una transmisión previa entre especies aviares, convirtiéndose en una cepa virulenta antes de infectar al huésped humano. Por otro lado, Ruppaner *et al.* (1984) mencionan que cepas de *Chlamydophila* de baja virulencia están diseminadas en las poblaciones aviares y son usualmente de poca consecuencia para las personas.

En lo que respecta a la población humana de bajo riesgo, se determino 8% (2/25) sueros positivos del total de muestreados de este grupo. La seropositividad en este caso puede deberse, entre otras causas a que quizá si haya existido contacto con portadores de *C. psittaci*, a pesar de que estas personas declararon no tener animales, el contagio se pudo dar tal vez, en un parque con palomas por mencionar un ejemplo. Por otro lado, pudiera pensarse en reacciones cruzadas en la prueba serológica causadas por los antígenos de grupo de otras bacterias presentes, al respecto Andersen *et al.*, (1998), opinan

que uno de los problemas en la prueba de ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas (ELISA) era que existía una reacción con los epítopes estructurales de otras bacterias gram negativas, no obstante desde el empleo de anticuerpos monoclonales en los “Kits” desarrollados últimamente (como el utilizado en el presente trabajo) este problema se ha reducido o eliminado.

En este estudio, no se evaluó la condición de salud de las personas muestreadas, sin embargo, se encontraron diferencias importantes en la presencia de anticuerpos entre las dos poblaciones muestreadas. Lo anterior sugiere que existe una relación entre la presencia de *C.psittaci* en las aves y la detección de anticuerpos contra este microorganismo en los humanos que se encuentran en contacto con ellas, con el consecuente peligro para estos últimos de desarrollar la enfermedad en cualquier momento. Por lo tanto, es importante que las personas que pueden considerarse como población de alto riesgo estén informadas sobre esta zoonosis y las medidas para prevenirla.

Basándose en los estudios anteriormente expuestos y lo mencionado por otros autores (Rojas, 1996; Urquiza *et al*, 1997 y Escalante-Ochoa *et al*, 1997), es posible asegurar que el agente causal de la clamidiosis aviar efectivamente y desde hace muchos años se encuentra en México y probablemente más difundido de lo que pudiera haberse sospechado.

Los resultados obtenidos en estudio demostraron que en la mayoría de los lugares muestreados se encontraron aves portadoras de *C. psittaci*, lo anterior sugiere una amplia distribución de la enfermedad en nuestro país con base en que las aves provienen de diferentes áreas de México geográficamente hablando. Como medidas de control de la enfermedad se han sugerido las siguientes:

- Hábitos de higiene con las mascotas aviares.
- Evitar inhalar aerosoles provenientes de excrementos secos o secreciones de las aves infectadas.
- Evitar contacto directo pico-boca.
- Precaución en el manejo de aves sospechosas.
- Inspección clínica de la mascota por médicos veterinarios calificados.

- Reproductores libres de la enfermedad en criaderos de aves.
- Vigilancia epidemiológica y difusión en medios de comunicación por parte de las autoridades sanitarias correspondientes (Johnston, 2005).

Es necesario ampliar este trabajo y llevar a cabo muestreos “pareados” de sueros para determinar la situación y el curso de la infección en colecciones aviares de la República Mexicana, así como, realizar investigaciones en humanos que lleven a establecer el diagnóstico de clamidiosis aviar en el caso de algunos padecimientos respiratorios inespecíficos.

Se sugiere investigar profundamente a este respecto, con el objeto de poder determinar el impacto sanitario y económico que esto pueda tener, así como el riesgo que representa en salud pública.

8. CONCLUSIONES

1. Se comprobó la presencia de anticuerpos por medio de prueba inmunoenzimática comercial en papel (ELISA) contra *C. psittaci* en aves silvestres en cautiverio y de compañía muestreadas.
2. Se identificó la presencia de anticuerpos por medio de prueba inmunoenzimática (ELISA) contra *C. psittaci* en poblaciones de humanos, existiendo una relación importante entre la seropositividad y la actividad profesional.
3. Aves aparentemente sanas son portadoras de *C. psittaci* por lo tanto, posibles transmisores potenciales de la enfermedad a otras aves y a los humanos.
4. Se demostró un papel importante de la *C. psittaci* en las afecciones respiratorias de las aves en este estudio.
5. Se incrementó el listado de especies de aves portadoras de *C. psittaci*.

9. REFERENCIAS

1. Acha, PN. Zoonosis y Enfermedades transmisibles comunes al hombre y a los animales. Organización Panamericana de la salud. USA 1992: 257-262.
2. Organización mundial de sanidad animal (OIE), www.oie.int/esp/es-index.htm, Accesado mayo, 2006.
3. Ramsay EC. The Psittacosis Outbreak of 1929-1930. Association of Avian veterinarians, journal of Avian Medicine and Surgery 2000; (4): 235-237.
4. Page L, Grimes, J. Avian Chlamydiosis In. Hofstad MS, Ed Poultry Diseases, 8th ed .Ames Iowa State University Press.1985: 283-308.
5. Johnston W, Edison M, Smith K and Stobierski M. Compendium of measures to Control *Chlamydia psittaci* among humans (psittacosis) and pet birds (avian chlamydiosis). Commitee of the national Association of State Public Health Veterinarians Report. July, 2005: 1-17.
6. Meyer K, Eddie B, and Yanamura H. Ornithosis (psittacosis) in pigeons and its relation to human pneumonitis. Proc.exptl.biol.Med.49.1965:609.
7. Brand C. Chlamydial infections in free-living birds. Journal of the American Veterinary Medical Association 1989; (195):1531-1535.
8. Terskikh I, Shel'tsov-Bebutov A, Kuborina L, and Keleinikov A. Studies on ornithosis in birds and its focal distribution.Vopr.virusol.6, 1961:131.
9. Anónimo. Association of Avian Veterinarians. Disponible en www.aav.org accesado marzo 2005.
10. Urquiza BO, Cassaubon MT. Informe del aislamiento de *Chlamydia* spp. a partir de una paloma de vida libre. Memorias de la 22 Convención ANECA, Ixtapa, Gro. 1997.
11. Escalante-Ochoa C, Diaz-Aparicio E, Segundo-Zaragoza C, Suarez-Guemes F. Isolation of *Chlamydia psittaci* involved in abortion of goats in Mexico: first report. Rev Latinoam Microbiol. 1997; (3-4):117-21.
12. Escalante-Ochoa,C, Rivera-Flores,A, Trigo-Tavera,F, and Romero-Martinez, I. Detection of *Chlamydia psittaci* in enteric subclinical infections in adult sheep through cell cultural isolation. Rev. Lat. Amer. Microbiol., 38. 1996: 17-23
13. Ridell C. Avian Histopathology, Western College of Veterinary Medicine, Association of Avian Pathologist 1996:101.
14. Diario Oficial de la Federación, 5 de marzo de 1999. Acuerdo mediante el cual se enlistan las enfermedades y plagas exóticas de notificación

obligatoria en los Estados Unidos Mexicanos. Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación, SAGARPA, 2005.

15. Rojas A. Aislamiento de *Chlamydia psittaci* en aves de ornato mediante cultivo celular y la prueba de inmunofluorescencia indirecta. Tesis de licenciatura. FMVZ-UNAM, 1996.
16. Hayde SR, Benirschke K, Gestacional psittacosis: Case report and literature review. Mod Pathol.1997 Jun; (6):602-607.
17. Lederer P, Muller R. Ornithosis studies in correlation with an outbreak. Gesundheitswesen 1999, Dec ;(12):614-619.
18. Maegawa N, Emoto T, Yamaguchi D, Fujinaga T, Tezuka N, Sakain,N *et al.*, Two cases of *Chlamydia psittaci* infection occurring in employees of the same pet shop. Nihon Kokyuki Gakkai Zasshi. 2001 Oct.; 39(10): 753-757. Revisión de resúmen.
19. Bourne D, Beck N, Summerton, CB. *Chlamydia psittaci* pneumonia presenting as acute generalized peritonism. Emerg. Med. J. 2003 Jul; 20(4): 386-387.
20. Schwabe C, Medicina Veterinaria y Salud Pública Edit. Novaro 1968: 385-387.
21. Fudge A, McEntee L. Differential diagnosis and management of septic avian patient. Proceedings of the Association of Avian Veterinarians. 1985: 109-114.
22. Gerlach H, Chlamydia, In Ritchie, B. Harrison, G. Harrison,L. eds. Avian Medicine: Principles and Application, Lake Worth , Fl. Wingers Publishing. 1994: 984-996.
23. Ward M. Chlamydiae professional disponible en www.chlamydiae.com professional. accesado marzo 2006.
24. Bougiouklis P, Papioannou N, Georgopoulou I, Iordanidis P. *Chlamydia* induced bilateral ectropion of the inferior eyelids in pigeons. Avian Diseases 2000 Apr-Jun. (2):372-378.
25. Mohan R. Advances in *Chlamydia* diagnosis. Proceedings of the Association. Of Avian Veterinarians, 1989: 35-37.
26. Euzéby JP, Dictionnaire de Bactériologie Vétérinaire. Disponible [www.chlamydiales%20chlamydiaceae, waddliaceae.htm](http://www.chlamydiales%20chlamydiaceae,%20waddliaceae.htm) accesado Oct. 2003.
27. Everett KD, Taxonomy of the *Chlamydia* and *Chlamydiales* 2001 www.chlamydiae.com/docs/chlamydiales/taxonomy.htm, accesado

Sept.2003.

28. Vanrompay D, Ducatelle R, and Haesebrouck F,. *Chlamydia psittaci* infections: a review with emphasis on avian chlamydiosis. Vet. Microbiol. 1995, 45: 93-119
29. American Association of Avian Pathologists, A Manual of Methods for Laboratory Diagnosis of Avian Chlamydiosis, University of Pennsylvania, 1962:1-26.
30. Andersen A, Sanderson T. Comparison of fecal, cloacal and oral samples for the diagnosis of Chlamydiosis, Proceedings of the American Association of Veterinary Laboratory Diagnosticians. 1998:55.
31. Grimes J. Owens K, Singer J. Experimental transmission of *Chlamydia psittaci* to turkeys from wild birds. Avian Diseases.1979, Oct-Dic. (4):915-26.
32. Fudge A. Clinical observations with avian chlamydial infections. Proceedings of the association of Avian Veterinarians, New Orleans, LA. 1992: 48-59.
33. Phong SF. Prevalence and Characterizacion of *Chlamydia psittaci* from birds in Malaysia. Thesis University Putra Malaysia, 1998.
34. McElnea CL, Cross GM, Methods of detection *Chlamydia psittaci* in domesticated and wild birds. Aust. Vet. J. 1999; (8): 516-521.
35. Clubb S. Chlamydiosis: An enigma for the pet bird industry. Journal of the American Veterinary Medical Association.1989,(11):1521-1524.
36. Campbell T. Hematology in Ritchie B, Harrison G, and Harrison L. Avian Medicine: Principles and Application, Lake Worth Fl. Wingers publishing 1994: 177-198.
37. Kay RS. Psittacosis in Egypt: A case Study. J Travel Med. 1997 Mar; (1): 48-49. Revisión de resúmen.
38. Lillie R. Some experiments on the Romanowsky staining blood films. J. Lab. Clin. Med. 1943 (28): 1872-1875.
39. Daft M, Grumbles C, Pearson E, Vice E and Grimes E. A manual of methods for laboratory diagnosis of avian chlamydiosis. American Association of Avian Pathologists. University of Pennsylvania. 1992: 12-25.
40. Tully TN jr. Evaluation of procedures to diagnose *Chlamydia psittaci* in companion birds. Masters Thesis, Lousiana State University, Baton Rouge, May 1991.

41. Tully TN jr. Alternative diagnostic procedures for *C. psittaci*. Proceedings of the Association of avian veterinarians, Chicago IL. 1991:137-140.
42. Woodward MD, Detection of *C. Psittaci* in avian clinical samples by polimerasa chain reaction, Veterinary Microbiology 1997 ;(54):155-166.
43. Goupil F, Pelle-Duporte D, Kouyomdjian S, Carbonnelle B, Tuchais E., Severe pneumonia with pneumococcal aspect during an ornithosis outbreak. Press Med.1998. Jun; (22):1084-1088.
44. Campbell T. Avian hematology and cytology. Iowa State University Press 1992:74-75.
45. Kawamura A, Yuzo A, Beutner E, Fujiwara S, Hayashi K, Kawamura A jr, Fluorescent antibody techniques and their applications. University of Tokio Press. 1977: 77-86
46. Sánchez J y Cambra M. Técnicas inmunoenzimáticas ELISA en patología animal y vegetal. Office International des Epizooties e Instituto Nacional de Investigaciones Agrarias. Serie técnica N° 7 .1987, 2 -40.
47. Gerbermann H. Infections with *Chlamydia psittaci*: Alternatives for diagnosis and control. Proceedings of the Association. of Avian veterinarians. 1998: 69-77.
48. Vanrompay D, Ducatelle R, and Haesebrouck F. Evaluations of the immunoassays for detection of *Chlamydia psittaci* in cloacal and conjuntival specimens from turkeys.J Clin. Microb. 1994, 32: 1470-1474
49. Vanrompay D., Cox E, Volckaert G and Goddeeris B. Turkeys are protected from infection with *Chlamydia psittaci* by plasmid DNA vaccination against the major outer membrane protein. Clin. Exp. Immunol. 1999; (1): 49-55.
50. Arneistein P, Eddie B, Meyer K. Control of psittacosis by group chemotherapy of infected parrots. American Journal of Veterinary Research. 1968, 29: 2213-2227.
51. Flammer K. Antimicrobial therapy, In Ricthie,B. Harrison,G. Harrison,L. eds. Avian medicine: Principles and Application , Lake Worth,Fl:Wingers Publishing; 1994 :434-456.
52. Flammer K. Plasma concentrations of enrofloxacin in African grey parrots treated with medicated water. Avian Diseases 1990; 34: 1017-1022.
53. Sommocer J. Avian medicine. Edit. Mosby 2000:252-253.
54. Thomas NT. Avian medicine, Butterworth Heineman 2000:132-133.
55. Tully TJ. Clinical Aspects of Companion Birds Chlamydial Infections. Seminars in Avian and Exotic Pet Medicine.1993; (2):157-160.
56. Vargas R. Términos de uso común en epidemiología veterinaria .FMVZ.

- UNAM, Plaza y Valdéz, S.A. de C.V.2000.
57. Mark R. Guía de las aves de adorno. Edit. Omega, Barcelona; 1981:133-187.
 58. Vriends M. Guía de aves de jaula. Edit. Grijalbo, Barcelona; 1984: 1-206.
 59. Peterson R, Chalif E. Aves de México, guía de campo. Edit. Diana 2000: 6-130.
 60. Evans T, Chalmers P, Woolcock R, Farmer H and Taylor-Robinson D. An enzyme-linked immunoabsorbent assay (ELISA) for the detection of chlamydial antibody in duck sera. *Avian pathology*, 1983; (12):117-124.
 61. Phalen D. *Chlamydophila psittaci* infections in companion birds. Proceedings 25 th annual conference avian medicine and surgery, Mid-atlantic states Association of avian veterinarians. 2004:229-232.
 62. The National Geographic Society, Field guide to the birds of North America. Washington, USA.1992: 62-302.
 63. Bendheim V, Naveh A and Keren E. Antibody testing for *Chlamydia psittaci* using a rapid ELISA-Kit. Proceedins of international virtual conferences in veterinary medicine: Diseases of psittacine birds. may-jun-Koret School of Veterinary Medicine, Hebrew University, Israel and Biogal Laboratories, Kibbutz Galed, Israel 1998.
 64. Tânia de Freitas R, Berchieri Â, Pinto A. Evidence of *Chlamydophila psittaci* infection in captive amazon parrots in brazil. *Journal of Zoo and Wildlife Medicine*: Vol. 33, No. 2, 2001: 118–121.
 65. Ruppaner R, Behymer DE, DeLong W, Franti C, Schulz T. Enzyme Immunoassay of *Chlamydia* in birds. *Avian diseases* 1984; (28):608-615.
 66. Burkhart R, and Page L. Chlamydiosis (Ornithosis-Psittacosis).Infections and parasitic diseases of wild birds. Edit. Davis *et al.* Ames, Iowa state University Press. 1971: 121-144.
 67. Centers for disease control and prevention CDC, Disponible en [www.cdc.gov/ncidod/dbmd/diseaseinfo/psittacosis t.htm](http://www.cdc.gov/ncidod/dbmd/diseaseinfo/psittacosis.htm). accesado junio 2006.
 68. Anónimo, Yahoo news. Chlamydia outbreak kills a dozen penguins. URL http://news.yahoo.com/s/ap/penguins_chlamydia, accesado mayo 2005.
 69. Travis EK, Vargas H, Merkel J, Gottdenker N, Miller E, Parker G. Hematology, plasma chemistry, and serology of the flightless cormorant (*Phalacrocorax harrisi*) in the Galapagos Islands, Ecuador. *J Wildl Dis.* 2006 Jan; (1):133-41.
 70. Herrmann B, Persson H, Jensen K, Joensen D, Klint M, Olsen B. *Chlamydophila psittaci* in Fulmars, the Faroe Islands. *Emerg Infect Dis.* 2006 ;(2):330-2.

71. Cremoux P, Subtil A, Ferreri J, Vincent-Salomon A, Ponzoni M, Chaoui D, *et al.* Evidence for an association between *Chlamydia psittaci* and ocular adnexal lymphomas. J. Natl. Cancer Inst. 2006; (5):365-6.
72. Espinosa de los Monteros T, Laguna Sorina A, Rueda da Domingo T, Lopez Hernandez B, Bermejo Perez J, *et al.* Psittacosis outbreak in Granada, Spain. Rev. Esp. Salud Pública. 2005 Sep-Oct; (5):591-7.
73. Haas E, Tjan H, Schouten A, van Zanten R. Severe pneumonia from psittacosis in a bird-keeper. Ned Tijdschr Geneesk. 2006;(3):117-21
74. Yamnikova S, Fedyakina I, Tsibezov I, Terskich D, Ivanovsky D. Cases of human infection with *Chlamydia psittaci* resulting from contact with animals. Proceedings fourth meeting of the European society for *Chlamydia* research Universitas Helsingiensis, 2000:316. Revisión de resúmen.
75. Dovc A, Dovc P, Kese D, Vlahovic K, Pavlak M, and Zorman-Rojs O. Long-term study of Chlamydophilosis in Slovenia. University of Ljubljana. Vet Res Commun. 2005; (1):23-36. Revisión de resúmen.
76. Greco G, Corrente M, Martella V. Detection of *Chlamydophila psittaci* in Asymptomatic Animals. Journal of Clinical Microbiology, 2005, (10): 5410-5411

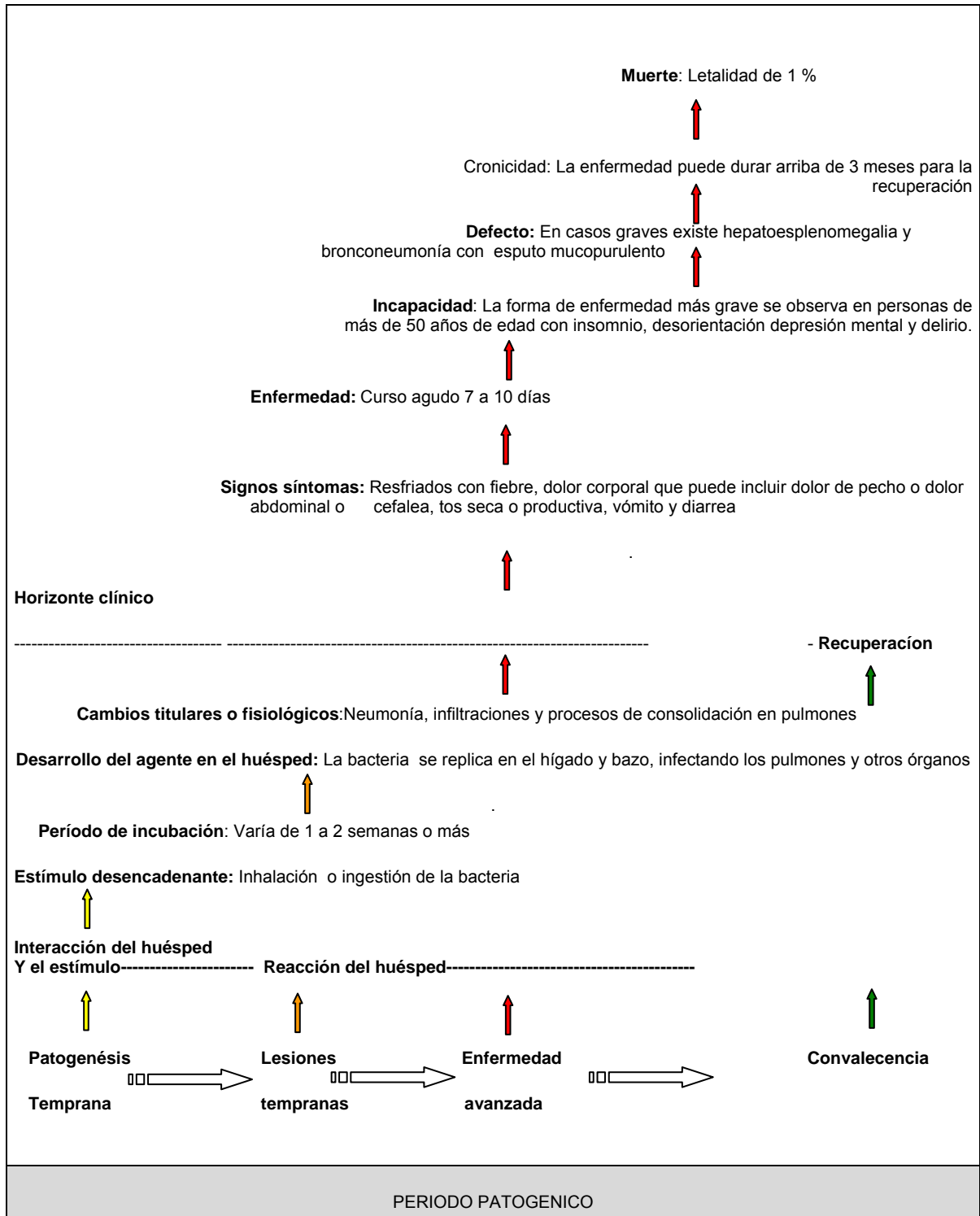
11. CUADROS

Cuadro 1. HISTORIA NATURAL DE LA CLAMIDIOSIS AVIAR

| AGENTE | HUÉSPED | AMBIENTE |
|---|---|--|
| <ul style="list-style-type: none"> • <i>Chlamydophila psittaci</i> pertenece a la orden <i>Chlamydiales</i> de la familia <i>Chlamydiaceae</i>. • Organismo parásito intracelular obligado, es una bacteria esférica, Gram negativa de 0.3 a 1.5 μm de diámetro que contiene ADN y ARN, tiene una pared celular rudimentaria constituida por lipopolisacáridos, siendo esta el factor antigénico. • Susceptible a agentes que afectan el contenido lipídico de la pared celular, como los compuestos de cuaternarios de amonio, alcohol, peróxido de hidrogeno y nitrato de plata. | <ul style="list-style-type: none"> • Las aves domésticas y silvestres, cabras, borregos, vacas, cerdos, ratones, cuyos, liebres y gatos son las especies más susceptibles además del ser humano. • Fanáticos de las aves y propietarios de tiendas de mascotas son el grupo más afectado. • Otras personas en riesgo comprenden: veterinarios, agentes de aduanas, técnicos de laboratorio, granjeros y trabajadores de zoológico. | <ul style="list-style-type: none"> • Se encuentra distribuida mundialmente. Se presenta principalmente en países donde no existen medidas de control sanitario ni información al público acerca de esta zoonosis. • El ambiente sucio predispone a la transmisión de la bacteria a través de aerosoles, las heces y exudados que al secarse forman polvo y se puede inhalar. |
| PERIODO | PREPATOGENICO | |

Continúa....

Cuadro 1. Continuación (Curso y Evolución de la Enfermedad)



**Cuadro 1. Continuación (Prevención).
MEDIDAS PREVENTIVAS PRIMARIAS**

| PROMOCIÓN DE LA SALUD | PROTECCIÓN ESPECÍFICA |
|---|--|
| <ul style="list-style-type: none"> • Educación de la población abierta y a grupos de riesgo. • Información por los medios de difusión, clínicas veterinarias y tiendas de mascotas. | <ul style="list-style-type: none"> • Hábitos de higiene con las mascotas aviares. • Evitar inhalar aerosoles provenientes de excrementos secos o secreciones de las aves infectadas. • Evitar contacto directo pico-boca. • Precaución en el manejo de aves sospechosas. • Inspección clínica de la mascota por médicos veterinarios calificados. • Vigilancia epidemiológica. |
| PERÍODO | PREPATOGÉNICO |

| PREVENCIÓN SECUNDARIA | | PREVENCIÓN Terciaria |
|---|--|---|
| DIAGNÓSTICO DE COMPROBACIÓN | TRATAMIENTO | REHABILITACIÓN |
| <ul style="list-style-type: none"> • Aislamiento del agente: • Cultivo celular. • Cultivo en embrión de pollo. • Histopatología. • Prueba de ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas (ELISA). • Microinmuno-fluorescencia. • Fijación de complemento. | <ul style="list-style-type: none"> • La Doxiciclina es el tratamiento de elección, además de la Clortetraciclina, Oxitetraciclina, Espiramicina y algunas Quinolonas. La duración del tratamiento es variable entre 45 y 60 días. | <ul style="list-style-type: none"> • La letalidad no pasa del 1% cuando se trata a los pacientes de modo adecuado. |
| PERÍODO | | PATOGÉNICO |

Cuadro 2. Serotipos de *C. psittaci* y sus huéspedes.

(Vanrompay, *et al.*, 1995 y Andersen, 1997)

| Serotipo | Comentarios/ Distribución |
|----------|---|
| A | Aves psitácidas; endémica; siempre sistémica, pero puede ser inaparente; enfermedad zoonótica esporádica en humanos. |
| B | Palomas; endémica; también en pavos; causa absorción de embrión en vacas lecheras. |
| C | Patos, gaviotas, codornices; huésped aviar específico no identificado; riesgo zoonótico a trabajadores de rastros de aves y personas en contacto. |
| D | Pavos, gaviotas, periquitos australianos, humanos; riesgo zoonótico a trabajadores de rastros de aves y personas en contacto. |
| E | Patos, palomas, avestruces y ñandúes; reservorio aviar no identificado; primeros aislamientos de casos de neumonías en humanos. |
| F | Periquitos, un solo aislamiento en este serotipo. |
| G | Aislado a partir de un brote en ratas almizcleras y liebres. |
| H | Aislado de enteritis en ganado. |

Cuadro 3. Ocurrencia de anticuerpos contra *Chlamydophila psittaci* en aves silvestres en cautiverio y de compañía.

| Especie | No. aves | No.(%) positivas | Especie | No. aves | No.(%) positivas | Especie | No. aves | No.(%) positivas |
|--------------------------------|----------|------------------|------------------------------|----------|------------------|--------------------------------|----------|------------------|
| <i>Amazona autumnalis</i> | 12 | 8 (66) | <i>Nymphicus hollandicus</i> | 34 | 15 (44) | <i>Gallus gallus</i> | 14 | 14 (100) |
| <i>Amazona oratrix</i> | 5 | 5 (100) | <i>Kakatoe galerita</i> | 2 | 1 (50) | <i>Ortalis vetula</i> | 1 | 0 |
| <i>Amazona auropalliata</i> | 3 | 3 (100) | <i>Pionus senilis</i> | 1 | 0 | <i>Crax rubra</i> * | 2 | 2 (100) |
| <i>Amazona farinosa</i> | 2 | 2 (100) | <i>Anas anas</i> | 1 | 1 (100) | <i>Burhinus bistriatus</i> | 1 | 0 |
| <i>Amazona albifrons</i> | 8 | 6 (75) | <i>Anser anser</i> | 1 | 0 | <i>Penelopina nigra</i> * | 3 | 2 (66) |
| <i>Ara macao</i> | 4 | 4 (100) | <i>Columba libya</i> | 20 | 6 (30) | <i>Penelope purpurascens</i> * | 1 | 1 (100) |
| <i>Ara militaris</i> | 1 | 1 (100) | <i>Buteo jamaicensis</i> | 1 | 0 | | | |
| <i>Ara choloptera</i> | 3 | 3 (100) | <i>Buteo magnirostris</i> | 1 | 0 | | | |
| <i>Ara ararauna</i> | 1 | 1 (100) | <i>Buteo albicaudatus</i> | 1 | 0 | | | |
| <i>Brotogeris jugularis</i> | 1 | 0 | <i>Asturina nitida</i> | 1 | 0 | | | |
| <i>Aratinga canicularis</i> | 7 | 7 (100) | <i>Polyborus plancus</i> | 1 | 0 | | | |
| <i>Melopsittacus undulatus</i> | 1 | 0 | <i>Aquila chrysaetos</i> | 1 | 0 | | | |
| <i>Poicephalus senegalus</i> | 1 | 0 | <i>Ramphastos sulfuratus</i> | 3 | 1 (33) | | | |
| <i>Psittacus erithacus</i> | 6 | 6 (100) | <i>Paromachrus moccino</i> * | 1 | 1 (100) | | | |
| <i>Agapornis roseicollis</i> | 2 | 0 | <i>Serinus canaria</i> | 2 | 0 | | | |

* Especies de nueva detección

Cuadro 4. Aislamiento de *Chlamydophila psittaci* en aves silvestres en cautiverio y de compañía.

| Especie | No. Aves | No. (%) Positivas | Especie | No. Aves | No. (%) Positivas |
|------------------------------|----------|-------------------|------------------------------|----------|-------------------|
| <i>Amazona albifrons</i> | 5 | 4 (80) | <i>Penelope purpurascens</i> | 1 | 1 (100) |
| <i>Amazona auropalliata</i> | 1 | 1 (100) | <i>Ara macao</i> | 1 | 1 (100) |
| <i>Amazona farinosa</i> | 1 | 1 (100) | <i>Ara militaris</i> | 1 | 1 (100) |
| <i>Anas anas</i> | 1 | 1 (100) | <i>Aratinga canicularis</i> | 4 | 4 (100) |
| <i>Crax rubra</i> | 1 | 1 (100) | <i>Columba libya</i> | 5 | 5 (100) |
| <i>Paromachrus moccino</i> | 1 | 1 (100) | <i>Penelopina nigra</i> | 1 | 1 (100) |
| <i>Nymphicus hollandicus</i> | 5 | 5 (100) | | | |

Cuadro No. 5 Proporciones entre poblaciones de humanos de alto y bajo riesgo.

| Población | Positivos | Negativos | p< |
|------------------|------------------|------------------|--------------|
| Alto riesgo | 0.2712 | 0.0679 | 0.0011 |
| Bajo riesgo | 0.038 | 0.0281 | 0.0001 |

Cuadro No. 6 Proporciones entre grupos de humanos por lugar de muestreo.

| Lugar | Positivos | Negativos | p< |
|--------------------------|------------------|------------------|--------------|
| Zoológico | 0.1695 | 0.0385 | 0.0048 |
| Tienda | 0.0338 | 0.0385 | 0.4443 |
| Población de bajo riesgo | 0.034 | 0.2820 | 0.0001 |

12. FIGURAS

Figura 1. Aves positivas a anticuerpos contra *C. psittaci* en relación a su estado clínico.

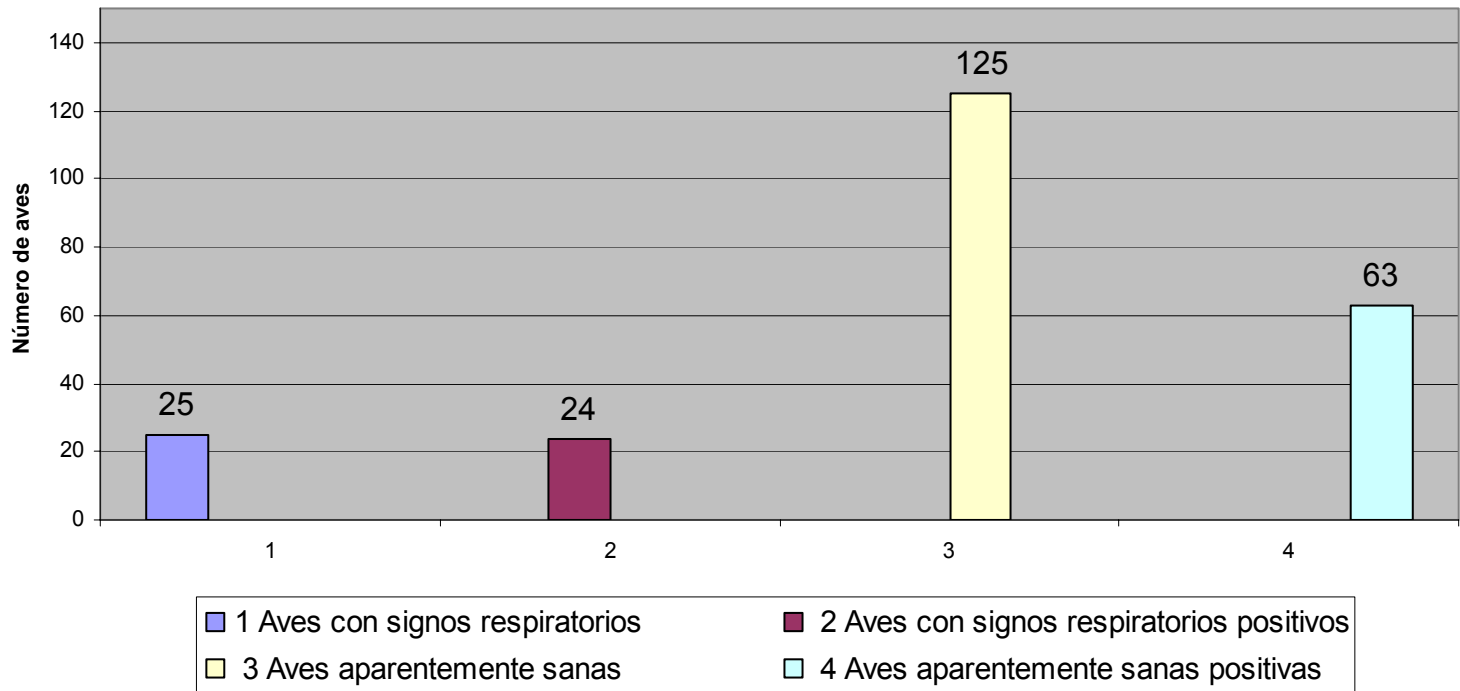
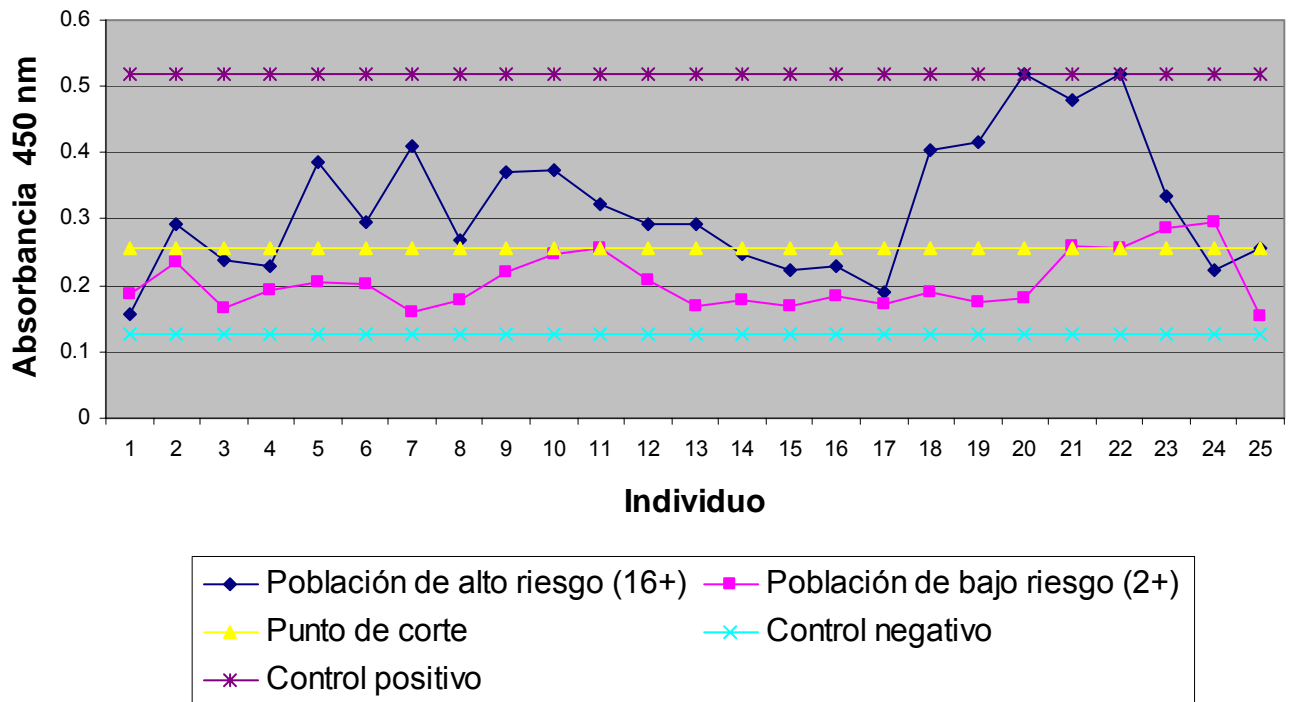


Figura 2. Niveles de anticuerpos contra *C. psittaci* en poblaciones de humanos de alto y bajo riesgo.



Figuras 1 a 12. Especies de aves

Familia *Psittacidae*



Fig.1 Guacamaya alaverde
(*Ara chloroptera*)



Fig.2 Loro gris africano
(*Psittacus erithacus*)



Fig.3 Guacamaya azul dorada
(*Ara ararauna*)



Fig.4 Cacatúa
(*Kakatoe galerita*)



Fig.5 Guacamaya escarlata
(*Ara macao*)



Fig.6 Guacamaya militar
(*Ara militaris*)



Fig.7 Loro cabeza amarilla
(*Amazona oratrix*)



Fig.8 Loro cabeza azul
(*Amazona farinosa*)



Fig.9 Loro nuca amarilla
(*Amazona auropalliata*)

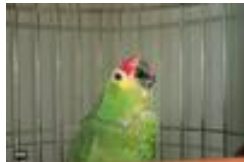


Fig.10 Loro mejillas amarillas
(*Amazona autumnallis*)



Fig.11 Loro frente blanca
(*Amazona albifrons*)



Fig.12 Periquito aliamarillo
(*Brotogeris jugularis*)

Foto1: <http://www.ivis.org/advances/harrison/chap2/chapter.asp?LA=1>; Foto 4: www.travel.mongabay.com; Fotos 2, 3, 5 y 6: www.betterphoto.com. Foto 8: www.animaldiversity.ummz; Fotos: 7, 10 y 12: www.animalpicturesarchive.com; Foto 9: www.betterphoto.com Foto11: <http://www.ivis.org/advances/harrison/chap2/chapter.asp?LA=1>

Figuras 13 a 18. Especies de aves

Familia *Psittacidae*



Fig.13 Cacatúa de las ninfas
(*Nymphicus hollandicus*)



Fig.14 Periquito australiano
(*Melopsittacus undulatus*)



Fig.15 Perico del senegal
(*Poicephalus senegalus*)



Fig.16 Perico frente anaranjada
(*Aratinga canicularis*)



Fig.17 Agapornis
(*Agapornis roseicollis*)



Fig.18 Perico coroniblanco
(*Pionus senilis*)

Figuras 19 a 23. Especies de aves

Familia

Falconidae



Fig.20 Águila real
(*Aquila chrysaetos*)



Fig.23 Aguililla gris
(*Asturina nitida*)



Fig.22 Aguililla caminera
(*Buteo magnirostris*)



Fig.24 Caracara
(*Polyborus plancus*)



Fig.19 Aguililla cola roja
(*Buteo jamaicensis*)



Fig.21 Aguililla cola blanca
(*Buteo albicaudatus*)

Fotos 13 y 14: www.betterphoto.com; Foto 15: www.images.google.com; Fotos 16,17 y 18: www.animalpicturesarchive.com

Fotos19,20 y 23: fotos del autor; Foto 21:www.images.google.com; Foto 24:www.betterphoto.com;

Foto 20: www.animalpicturesarchive.com

Figuras 24 a 28. Especies de aves

Familia *Cracidae*



**Fig.24 Hocofaisán
(*Crax rubra*)**



**Fig.26
Chachalaca
(*Ortalis vetula*)**



**Fig.25 Pava cojolita
(*Penélope purpuracens*)**



**Fig.27 Alvaraván
americano
(*Burhinus bistriatus*)**



**Fig.28 Pajuil
(*Penelopina nigra*)**

Foto 24: Kent Nickel,;Foto 25: J. del Hoyo-lynx edicions highland guan; Fotos 26,27y 28: www.animalpicturesarchive.com

Figuras 29 a 32. Especies de aves



Fig.29 Familia: *Ploceidae*
Canario
(*Serinus canaria*)



Fig.30 Familia: *Trogonidae*
Quetzal
(*Paromachrus moccino*)

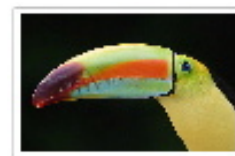


Fig.31 Familia: *Ramphastidae* Tucán pecho azufrado
(*Ramphastos sulfuratus*)



Fig.32 Familia: *Columbidae*
Paloma mensajera
(*Columba livia*)



Fig. 33 Familia: *Phasianidae*
Gallo de combate
(*Gallus gallus*)

Figuras 33 a 34. Especies de aves

Familia: *Anatidae*



Fig.34 Ganso común
(*Anser anser*)



Fig.35 Pato doméstico
(*Anas anas*)

Fotos 29, 30 y 32: www.animals.archive.com; Foto 31: www.betterphoto.com Foto 33,34 y 35: www.google.images.com

Figuras 36 a 37.

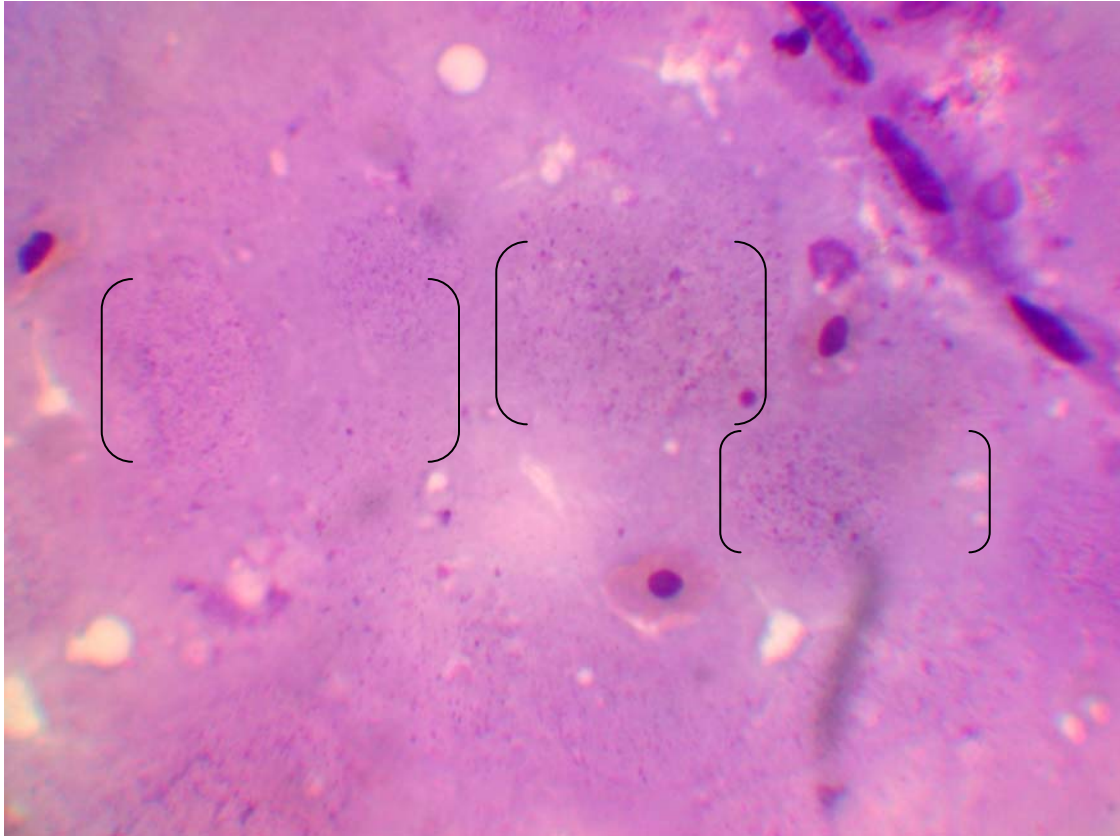


Fig. 36. Cuerpos elementales (CE) de *Chlamydophila psittaci* (100X) teñidas con Giemsa a partir de una impronta de saco vitelino de embrión de pollo.

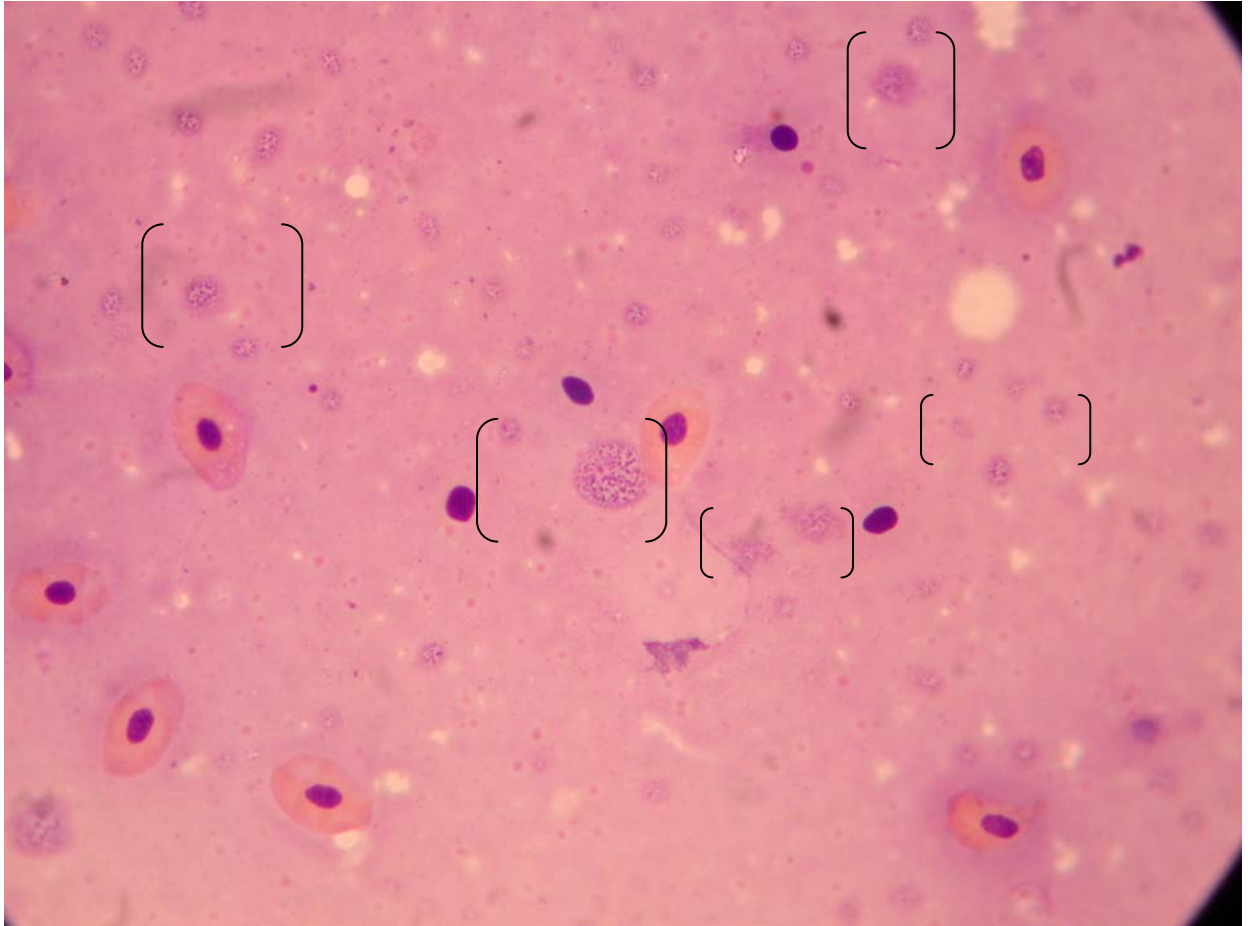


Fig. 37 Inclusiones intracelulares de *Chlamydophila psittaci* (100X) teñidas con Giemsa a partir de una impronta de saco vitelino de embrión de pollo.

Fotos: Dr. Tamas Fehervari Bone y autor.