

Artículo original

Detección de anticuerpos IgG contra *Chlamydophila psittaci* en aves psitácidas en cautiverio. Maracay, Venezuela

Carlos Rodríguez^{a,*}, Carmen Mogollón^b, Bibi Nazila Ali^c, Ernesto Fernández^d

^aDepartamento de Microbiología, Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad de Carabobo-Sede Aragua (UC). ^bFundación para el Estudio y Crecimiento de la Población Venezolana (FUNDACREDESA). ^cDepartamento Clínico Integral, (UC). ^dDepartamento de Producción Animal, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Central de Venezuela (UCV).

Recibido 15 de febrero de 2011; aceptado 13 de julio de 2011

Resumen: La clamidiosis es una enfermedad cosmopolita muy conocida en aves de la familia *Psittacidae*, cuyo agente etiológico es *Chlamydophila psittaci*. Puede causar desde una leve neumonía hasta la muerte del animal; además es posible su transmisión a otros animales y al humano a través de la inhalación del microorganismo, produciendo cuadros severos de neumonía y otras patologías. Las poblaciones con mayor riesgo de adquirir esta zoonosis son veterinarios, criadores de aves y toda persona en contacto con aves infectadas. En Venezuela no existen registros epidemiológicos de esta enfermedad en psitácidos ni en humanos. El objetivo de este trabajo fue detectar la presencia de anticuerpos contra *Chlamydophila psittaci* en aves psitácidas del parque Zoológico Las Delicias y el Zoocriadero Canaima por medio de la técnica de ELISA en fase sólida. Para ello se analizaron 24 muestras de suero de aves encontrándose 17 positivas, lo que se traduce en una prevalencia de anticuerpos IgG contra *Cp. psittaci* de 71%. Con estos resultados se pretende llamar la atención de las autoridades sanitarias respectivas sobre el impacto e importancia de la enfermedad en Venezuela.

Palabras clave: Psitácidos, *Chlamydophila psittaci*, zoocriadero, zoológico, clamidiosis.

Detection of IgG antibodies against *Chlamydophila psittaci* in captive psittacine birds. Maracay, Venezuela

Abstract: Chlamydiosis is a well known cosmopolitan disease in birds belonging to the *Psittacidae* family whose etiologic agent is *Chlamydophila psittaci*. It can produce from mild pneumonia to the death of the animal; its transmission to other animals and to humans is also possible through the inhalation of the microorganism, producing severe pneumonia episodes, as well as other pathologies. The populations with the highest risk of acquiring this zoonosis are those of veterinarians, bird keepers and all persons in contact with infected birds. In Venezuela there are no epidemiologic registries of this disease in psittacine birds or in humans. The purpose of this study was to detect the presence of antibodies against *Chlamydophila psittaci* in psittacine birds from the Las Delicias zoo and the Canaima Zoogrower through a solid phase ELISA technique. Twenty-four serum samples taken from birds were analyzed and 17 were found to be positive, which results in a 71% prevalence of IgG antibodies against *C. psittaci*. With these results we intend to call the attention of the respective public health authorities on the impact and importance of this disease in Venezuela.

Keywords: Psittacine birds, *Chlamydophila psittaci*, zoogrower, zoo, chlamidiosis.

* Correspondencia:
E-mail: leogod1985@hotmail.com

Introducción

El grupo de aves clasificado taxonómicamente como familia *Psittacidae*, también llamados psitácidos (loros, pericos, guacamayas y aves afines) es muy diverso y abundante, encontrándose una gran variedad de especies en su mayoría en países Suramericanos [1,2]. En un estudio realizado en Costa Rica se determinó que existen alrededor

de 250.000 animales silvestres en cautiverio, de ellos se estima que 150.000 (60%) son psitácidos [3].

La demanda global de este grupo de aves representa cientos de miles de ejemplares silvestres capturados anualmente, con un valor monetario que hace muy atractivo su comercio, señalando que los psitácidos y aves afines están sujetos a mayor explotación que cualquier otro animal silvestre [1]. Sin embargo, las aves psitácidas al igual que

los mamíferos, reptiles y anfibios, son susceptibles de ser infectados por microorganismos patógenos que pueden llegar a causar su muerte. Así mismo, estas aves poseen, generalmente, una estrecha relación de convivencia con el hombre, y en este sentido pueden convertirse en el reservorio de enfermedades transmisibles a los humanos, pudiendo generar serios problemas de salud pública y pérdidas al sector de explotación avícola [4-8].

El tráfico ilegal de aves es una puerta abierta para la diseminación de infecciones provenientes de diferentes partes del mundo, causando mayor problema en los países en vías de desarrollo, debido a que esta situación no está totalmente controlada [1].

Entre las enfermedades transmitidas por psitácidos, se encuentra la clamidiosis, zoonosis cuyo agente etiológico es *Chlamydophila psittaci* (*C. psittaci*), un patógeno oportunista de distribución cosmopolita [4-6,9-11], resistente a la desecación, por lo cual puede permanecer viable hasta un mes a temperatura ambiente. Su nombre se debe a que son psitácidos el grupo de aves que principalmente padecen la enfermedad, y a través de ellos se ha distribuido mundialmente, realizando su primera aparición en Estados Unidos en 1950, y en diferentes países de Europa en 1980 [6,7,12].

El mecanismo de transmisión de *C. psittaci* es a través de las vías respiratorias a partir de secreciones nasales, excretas secas, tejidos y plumas contaminadas por dicho patógeno. Su período de incubación es de 1 a 4 semanas [9,12]. Diversos estudios han demostrado que este microorganismo puede infectar a más de cien especies de aves [10,13,14], incluso logra infectar mamíferos como cabras, koalas, gatos y al hombre [4,14].

Este microorganismo es una bacteria que ha desarrollado la capacidad de adaptarse y multiplicarse en diferentes tipos de hospedadores, generando un conjunto de signos clínicos como anorexia, diarrea, plumas emboladas, temblores, alas caídas, depresión y disnea que puede ser mortal para el ave [15-19]. Mediante investigaciones se ha determinado que es posible la transmisión de persona a persona, cursando con problemas respiratorios, dolores intensos de cabeza, fuertes escalofríos y neumonías graves que pueden ser fatales para ancianos, niños e inmunosuprimidos [4,6,9,13].

Las aves representan el factor más importante en la transmisión de esta zoonosis. En relación a esto, es necesario conocer que las pertenecientes a zoológicos, parques zoológicos, plantas avícolas, pajareras, centro de columbicultura y centros veterinarios se encuentren libres de esta infección, debido a que las principales funciones de estos centros es la reincorporación de dichas aves al medio silvestre, exposición de especies a la población, venta de ejemplares como mascotas domésticas y el intercambio entre centros de cautiverio. En caso contrario si las aves pertenecientes a dichos centros presentaran la infección se podrían generar serios problemas de salud pública, ya que la segunda población en riesgo de adquirir la infección son los médicos veterinarios, trabajadores, población visitante a los centros anteriormente mencionados, y toda persona

que posea como mascota aves, principalmente de la familia *Psittacidae* [13].

Existen una serie de técnicas para el diagnóstico de clamidiosis como lo son el cultivo en embriones de pollo, métodos moleculares como la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR por sus siglas en inglés) [5,6,10,15,20], y técnicas serológicas como fijación del complemento e inmunoensayo de fase sólida (ELISA) para la detección de anticuerpos contra *C. psittaci* [5,6,12,14,21].

En la actualidad, la presencia y aspectos zoonóticos de *C. psittaci* son desestimados por los profesionales de salud tanto humana como animal, en parte atribuido al bajo número de casos conocidos y diagnosticados especialmente en Venezuela, donde no se realizan estudios de esta zoonosis,

Este trabajo tuvo como objetivo detectar anticuerpos IgG contra *C. psittaci* en aves psitácidas en cautiverio, en el parque Zoológico de Las Delicias en Maracay y en el Zoológico Canaima través de la técnica de ELISA.

Materiales y métodos

Población y muestra: La población estuvo comprendida por 24 aves psitácidas adultas (14 del género *Ara*, 6 *Amazonas* y 4 *Pionus*), albergadas en el Parque Zoológico Las Delicias y en el Zoológico Canaima, ubicados en la ciudad de Maracay, estado Aragua, Venezuela. Se recolectaron, en total, 24 muestras de suero.

Instrumento de recolección de datos: Se utilizó una hoja de registro para anotar la identificación, sitio de recolección, observaciones clínicas y datos de las muestras.

Recolección de la muestra: La extracción sanguínea en las aves se llevó a cabo con el consentimiento de los directores del Zoológico Canaima y del Parque Zoológico las Delicias. Este muestreo fue realizado y supervisado por un médico veterinario especialista en animales exóticos, el cual se encargó de pesar a cada ave y evaluar el volumen de sangre a extraer según su peso. (En aves pequeñas como el género *Pionus* se escogió la vena yugular y en aves grandes como los géneros *Ara* y *Amazonas* la vena alar).

Se obtuvieron de 0,5 a 1 mL de sangre venosa alar o yugular, usando inyectora para insulina, minimizando el grado de estrés de las aves durante la captura y evitando generar lesiones de tipo vascular, tales como: hematomas, flebitis o trombosis. Así mismo, se mantuvo la asepsia correspondiente con el uso de un antiséptico. Las muestras de sangre fueron colectadas en tubos de ensayo sin anticoagulante para ser transportadas directamente al laboratorio. Estos procedimientos fueron realizados de acuerdo a la normativa establecida en la Guía para el Cuidado y Uso de los Animales de Laboratorio del Institute of Laboratory Animal Resources Commission on Life Sciences National Research Council [22].

Conservación de la muestra: Las muestras se centrifugaron a 2.000 rpm durante 5 minutos para obtener el suero;

posteriormente se transfirieron a tubos secos y estériles, almacenándolos de 2 a 4 °C, hasta su análisis.

Análisis experimental: Se realizó en el Ambulatorio de Ocumare de la Costa, municipio Costa de Oro, estado Aragua-Venezuela. Los niveles de IgG se midieron utilizando el estuche ImmunoComb® (Orgenics) que consiste en un inmunoensayo en fase sólida. Las muestras se analizaron según el procedimiento descrito por Maluping *et al* [14].

Interpretación de los resultados: Cada diente del peine posee tres puntos que representan: el control positivo, el cual debe tener una coloración gris medio que sirve como punto de corte (cut off) para el análisis de las muestras; el control negativo, en el cual no se debe observar ninguna coloración; y por último la muestra, cuya intensidad de color gris depende del título de anticuerpos presentes. Según el CombScale®, la intensidad del color representa un rango asociado al título de anticuerpos. La lectura se interpretó de manera que toda muestra con una intensidad de color igual o superior al control positivo se consideró positiva para anticuerpos contra *C. psittaci*. Por el contrario, toda muestra que no generó coloración fue interpretada como negativa, y los casos en donde la intensidad de color fue menor al punto de corte fueron considerados como una reacción inespecífica con interpretación negativa.

Análisis de datos: Para el análisis se utilizó estadística descriptiva de frecuencias absolutas y relativas así como la prevalencia.

Resultados

Al analizar las 24 muestras de suero se encontró que 17 (71%) presentaron títulos de anticuerpos tipo IgG contra *C. psittaci*, distribuidos de la siguiente manera: 12 presentaron títulos medios de anticuerpos, 5 aves tenían títulos altos; la mayoría de las aves que presentaban títulos altos y medios pertenecen a la especie *Ara ararauna* (Tabla 1), mientras que, 5 (21%) aves carecían de anticuerpos; las 2 (8%) aves restantes poseían títulos bajos, lo cual se interpretó como negativo por considerarse una reacción inespecífica.

De las 14 aves del género *Ara* que se estudiaron en el Zoológico Las Delicias, 10 pertenecían a la especie *Ara ararauna*, 3 a la especie *Ara chloroptera* y 1 ave de la especie *Ara macao*; de estas 13 (93%) presentaron anticuerpos IgG contra *C. psittaci*, y 1 ave (7%) presentó título bajo, lo que se consideró negativo. De las 10 muestras analizadas del Zoológico Canaima, 3 eran de la especie *Amazona amazonica*, 2 pertenecían a *Amazona barbadensis*, otras 2 aves pertenecían a la especie *Pionus seneliode* y 1 ave de cada especie *Amazona auctumnales*, *Pionus fuscus* y *Pionus sordidus*; del total, 4 (40%) presentaron anticuerpos IgG contra *C. psittaci*, 5 (50%) aves carecían de anticuerpos y 1 ave (10%) presentó bajo título considerándose negativo (Tabla 2).

Se observó que 2 aves del zoológico (*Ara ararauna* y *Ara*

chloroptera) presentaban signos clínicos compatibles con clamidiosis, tales como debilidad, plumas caídas, pérdida de peso, etc., por otro lado en ningún ave del zoológico se observaron signos clínicos de enfermedad.

Las 2 aves (12%) que presentaban signos clínicos compatibles con clamidiosis poseían altos títulos de anticuerpos IgG contra *C. psittaci*. Sin embargo, 15 aves (88%) aparentemente sanas presentaron igual o menor título de anticuerpos contra la bacteria.

Discusión

Desde hace algunos años se ha estudiado la prevalencia de *C. psittaci*, por ser uno de los principales agentes patógenos causante de zoonosis [1, 6, 11,14]. Los resultados obtenidos en esta investigación demuestran una alta prevalencia de anticuerpos IgG contra *C. psittaci*, encontrándose en 17 (71%) de las aves psitácidas estudiadas, de las cuales 12 tenían títulos medios indicando que han estado en contacto con la bacteria o se encontraban en la fase aguda de la enfermedad, pudiendo ser portadoras de la infección para otras aves o incluso el humano, y 5 aves con títulos altos indicaron una infección activa en donde existía mayor riesgo de desarrollar los signos de la enfermedad, pudiendo ser mortal, con mayor probabilidad de transmisión. Shettler

Tabla 1. Distribución de anticuerpos IgG contra *C. psittaci*, según la especie de aves psitácidas adultas de los géneros *Ara*, *Amazona* y *Pionus*.

Especie	Presencia de anticuerpos		
	Alta	Media	Baja
<i>Ara ararauna</i>	4	6	--
<i>Ara chloroptera</i>	1	1	1
<i>Ara macao</i>	--	1	--
<i>Amazona amazonica</i>	--	1	--
<i>Amazona barbadensis</i>	--	1	--
<i>Pionus fuscus</i>	--	--	1
<i>Pionus seneloide</i>	--	1	--
<i>Pionus sordidus</i>	--	1	--
Total	5	12	2

Tabla 2. Prevalencia de anticuerpos IgG contra *C. psittaci* en aves psitácidas del Zoológico Las Delicias y el Zoológico Canaima.

	Parque Zoológico Las Delicias		Zoológico Canaima	
	N.º	%	N.º	%
Acs. presentes	13	93	4	40
Acs. ausentes	--	--	5	50
Acs. inespecíficos	1	7	1	10

et al. [15], reportaron que 63% de las aves en su estudio tenía anticuerpos por medio de la técnica de ELISA. Estos mismos autores en el año 2003 reportaron una prevalencia de 74% [13], similar a la obtenida en este trabajo; por otra parte Travnicek *et al.* [9] obtuvieron una prevalencia de título medio de anticuerpos de 33,3%, indicando que las aves se encontraban en el periodo agudo de la enfermedad, y hasta 85,1% de títulos altos, significativos de infección activa.

Las aves del género *Ara* que se encontraban en el zoológico estaban en condición de hacinamiento, mientras que las aves del género *Amazonas* y *Pionus* del zoológico se encontraban separadas en parejas, según la especie, en jaulas distintas pero adyacentes, por ello era de esperar que en el zoológico se encontrara mayor prevalencia de anticuerpos contra *C. psittaci*, ya que el hacinamiento es considerado como un factor predisponente importante en la transmisión. Esta condición deprime el sistema inmunológico del ave y aumenta el riesgo de adquirir infección por *C. psittaci*, a diferencia del zoológico donde la cercanía entre las aves era menor, aunque persiste la posibilidad de transmisión. [4,18].

Es importante conocer la procedencia de las aves; ello permitirá estimar el riesgo de infección. Las aves que se encuentran en el zoológico son de procedencia desconocida y, según los resultados, casi todas poseen anticuerpos contra *C. psittaci*, mientras que las aves del zoológico son nacidas allí o adquiridas en otros zoológicos. Por ello, es de esperar que la prevalencia sea baja, tal como lo confirma nuestro estudio.

De igual forma se observó que la mayoría de las aves adultas infectadas no presentaron signos sospechosos de clamidiosis, aun teniendo altos títulos de anticuerpos, coincidiendo con lo demostrado por varios autores [13,16-18]. La literatura describe que la aparición de los signos depende de la virulencia de la bacteria, sensibilidad de la especie afectada y estado inmunológico del ave; de igual forma, otros factores como el estrés, malnutrición y hacinamiento también lo facilitan [13,18]. Conociendo que todas las aves en nuestro estudio eran adultas y la mayoría no tenía signos de enfermedad, es posible que exista infección con un serotipo de *C. psittaci* de baja virulencia el cual no produce enfermedad clínica, pero aun así pueden ser portadoras de la bacteria, producir anticuerpos y eliminar los cuerpos elementales [13].

La mayoría de los autores coinciden en la importancia de realizar más estudios epidemiológicos en la población de aves susceptibles, ya que se observa cada vez más la presencia de anticuerpos contra *C. psittaci*; de igual forma se recomienda realizar el seguimiento a las aves infectadas y realizar controles con otros métodos serológicos, detección del material genético o aislamiento del microorganismo.

Conclusiones

El presente estudio aporta datos sobre la clamidiosis en aves en Venezuela, donde, en la actualidad, no existen

registros de casos relacionados con esta zoonosis. Por otra parte, esta información es útil como antecedente para futuras investigaciones relacionadas con clamidiosis. Se infiere el riesgo que existe de transmitir la infección de las aves a la población en general, al estar en contacto con éstas en los centros de cautiverio investigados en el presente estudio.

Finalmente, este trabajo pretende llamar la atención de las autoridades sanitarias respectivas sobre el impacto e importancia de esta zoonosis.

Referencias

1. Alvarado M, Alvarado C, Rincón M, Fernández G, Lara J, Villasmil Y, y col. Valores hematológicos de psitácidos de los géneros *Ara* y *Amazonas* cautivos en zoológicos de Venezuela. Rev Cient (Maracaibo) 2008; 18:649-61.
2. Renton K. Seasonal variation in occurrence of macaws along a rainforest river. J Field Ornithol. 2002; 73:15-9.
3. Drews C, Caracterización general de la tenencia de animales silvestres como mascotas en Costa Rica. En: Nassar F, Crane R, editores. Actitudes hacia la fauna en Latinoamérica. Washington DC: Human Society Press; 2000. p.45-55.
4. García J, Contreras A, Manuel J, Gelen L. Revisión de zoonosis ornitológicas. CIENCIA. Universidad Autónoma de Nuevo León. 2003; 6:23-7.
5. Vanrompay D, Van Nerom A, Ducatelle R, Haesebrouck F. Evaluation of five immunoassays for detection of *Chlamydia psittaci* in cloacal and conjunctival specimens from Turkeys. J Clin Microbiol. 1994; 32:1470-4.
6. Goellner S, Schuber E, Liebler E, Hotzel H, Saluz H, Sachse K. Transcriptional response patterns of *Chlamydomphila psittaci* in different in vitro models of persistent infection. Infect Immun. 2006; 74:4801-8.
7. Laval R. La enfermedad de las cotorras infecciosas. Rev Chil Infectol. 2003; 20:37-8.
8. Kaibu H, Iida K, Ueki S, Ehara H, Shimasaki Y, Watanabe S. *et al.* Psitacosis in all four members of a family in Nagasaki, Japan. Jpn J Infect Dis. 2006; 59:240-1.
9. Travnicek M, Cislakova L, Deptula W, Stosik M, Bhide M. Wild pigeons and pheasants – a source of *Chlamydomphila psittaci* for humans and animals. Ann Agric Environ Med. 2002; 9: 253–5.
10. Van loock M, Verminnen K, Messmer T. Use of a nested PCR- enzyme immunoassay with an internal control to detect *Chlamydomphila psittaci* in turkeys. BMC Infect Dis. 2005; 5:1-9.
11. Martínez M, Diomedi A, Kogan R, Borie C. Taxonomía e importancia clínica de las nuevas familias del orden *Chlamydiales*. Rev Chil Infectol 2001; 18:203-11.
12. Beeckman D, Vanrompay D. Zoonotic *Chlamydomphila psittaci* infections from a clinical perspective. Clin Microbiol Infect. 2009; 15:11-7.
13. Schettler E, Fickel J, Hotznel H, Sachse K, Jürgen W, Wittstatt U, *et al.* Newcastle disease virus and *Chlamydia psittaci* in free living raptors from eastern Germany. J Wildl Dis. 2003; 39:57-63.
14. Maluping R, Oronan R, Toledo S. Detection of *Chlamydomphila psittaci* from captive birds at the ninoy aquino parks and wildlife nature center, Quenzon city, Philippines. Ann Agric Environ Med. 2007; 14:191-3.
15. Schettler E, Laggemach T, Sömmer P, Streich J, Frölich

- K. Seroepizootiology of selected infectious disease agents in free-living birds of prey in Germany. *J Wildl Dis.* 2001; 37:145-52.
16. Franson JC. Chlamydiosis. In: Friend M, Franson JC, editores. Field manual of wildlife diseases birds. General field rocedures and diseases of birds. Washington: Biological Resources Division National Wildlife Health Center; 1999. p. 111-4.
17. Gerlach H. Chlamydia. In: Ritchie B, Harrison G, Harrison L, editores. Avian medicine principles and application. Florida: Wingers Publishing Inc.; 1994. p. 984-96.
18. Griñan J. Medicina aviar. Enfermedades bacterianas. II congreso JG de julio 2004 en el hospital veterinario JG de Mutxamel (Alicante. España). En: <http://vetjg.com/shared/php/page.php?page=medicinaaves>. Acceso 12 junio de 2010.
19. Heddma E, Sluis S, Buys J, Vandenbroucke-Grauls C, Wijnen J, Visser C. Prevalence of *Chlamydophila psittaci* in fecal droppings from feral pigeons in Amsterdam, the Netherlands. *Appl Environ Microbiol.* 2006; 72:4423-35.
20. Vanrompay D, Andersen A, Ducatelle R, Haesebrouck F. Serotyping of european isolates of *Chlamydia psittaci* from poultry and other birds. *J Clin Microbiol.* 1993; 31:134-7.
21. Kaleta E, Taday M. Avian host rango of *Chlamydophila* spp. based on isolation, antigen detection and serology. *Avian Pathol.* 2003; 32:432-62.
22. National Research Council of the National Academies, Guide for the Care and Use of Laboratory Animals, 1996. En: <http://grants.nih.gov/grants/olaw/Guide-for-the-Care-and-use-of-laboratory-animals.pdf>. Acceso 12 de junio de 2010.