

Nota de investigación

**AISLAMIENTO DE UNA CHLAMYDIA A PARTIR DE PULMONES
NEUMONICOS DE OVINOS EN MEXICO**

PAU PIJOAN A.¹
CARLOS PIJOAN A.²
ELISEO HERNÁNDEZ B.³

Las enfermedades neumónicas de los ovinos en México representan uno de los problemas más graves de esta especie animal. En efecto, Pijoan (1977) encontró que el 13.3% de los ovinos sacrificados en el rastro de Ferrería presentaban lesiones neumónicas.

Los agentes etiológicos involucrados en esta enfermedad pueden ser muy variados. Así, se ha informado la presencia de hongos (Stevenson, 1969), parásitos (Poynter y Selway, 1966), virus en especial Parainfluenza 3 (Stevenson y Hore, 1970) y bacterias entre las que destacan *Pasteurella hemolytica* (Marsh, 1953), *Mycoplasma ovipneumoniae* (Carmichael *et al.*, 1972) y *Chlamydia psittaci* (McKercher, 1952).

No es fácil, sin embargo, producir neumonías experimentalmente con estos agentes por sí solos, por lo que se piensa que es probable que la enfermedad sea causada por la interacción secuencial de virus, clamidias o micoplasmas y bacterias, tal como sucede en otras especies animales (Pijoan, en prensa). Sin embargo, varios autores (McKercher, 1952; Boidin, Cordi y Adler,

1959; Dungworth y Cordy, 1962) consideran que *C. psittaci* es el agente etiológico primario y que los otros microorganismos descritos son invasores secundarios de menor importancia.

Este punto de vista no es compartido por algunos autores (Hamdy y Pouden, 1959) que no lograron reproducir experimentalmente la enfermedad utilizando clamidias, y por otros (Carmichael *et al.*, 1972) que consideran que *Mycoplasma ovipneumoniae* es el agente primario.

De cualquier forma, resulta evidente que *C. psittaci* es un agente importante en la producción de esta enfermedad. Debido a esto se realizó la presente investigación, con el fin de determinar si el agente existe o no en nuestro país.

Se obtuvieron 10 pulmones neumónicos de borrego en el rastro de Ferrería. Los pulmones fueron elegidos entre aquellos que presentaban lesiones sugestivas de clamidiasis pulmonar.

Se maceró un trozo de cada pulmón de aproximadamente 2 cm³, y al macerado se añadieron 20 cc de un diluyente consistente en caldo infusión de corazón con 10% de suero fetal bovino inactivado, 2% de glicerol y 1 g de estreptomycin/Lt. Se dejó reposar a temperatura ambiente durante 2 horas, con el fin de eliminar contaminantes bacterianos, y se centrifugó a 1,500 rpm durante 15 minutos. El sobrenadante se inoculó en embriones de pollo de 6-8 días de edad por vía del saco vitelino con .1 a .5 cc de inóculo por embrión. Los embriones muertos después de 2 días se desecharon, y todos los embriones sobrevivientes se sacrificaron a los 9 días posinoculación.

Con los sacos vitelinos de estos embrio-

Recibido para su publicación el 31 de agosto de 1977.

¹ Departamento de Bacteriología, Instituto Nacional de Investigaciones Pecuarias, SARH, Km. 15.5 Carretera México-Toluca, Palo Alto, D.F. Dirección actual: Royal Veterinary College, Londres, Inglaterra.

² Departamento de Ciencias Biológicas, ENEP-Cuautitlán, Apartado Postal Núm. 25, Cuautitlán Izcalli, Estado de México.

³ Proyecto de Investigaciones sobre Rabia Paralítica. Instituto Nacional de Investigaciones Pecuarias, SARH, Km. 15.5 Carretera México-Toluca, Palo Alto, D.F. Dirección actual: ENEP-C, Apartado Postal Núm. 25, Cuautitlán Izcalli, Estado de México.

nes se hizo un macerado que fue inoculado de nuevo a embriones de pollo. Este pase ciego fue repetido 3 veces con el fin de evidenciar los corpúsculos de inclusión característicos de las clamidias. Para observar dichos corpúsculos, se hicieron frotis del cordón umbilical, en la zona de unión al saco vitelino. Los frotis fueron teñidos con las tinciones de Machiavello y Giménez (Bartholomew, 1973) y fueron observados al microscopio (100X).

Con el fin de corroborar la eficacia del sistema de aislamiento, 20 embriones fueron inoculados por vía intranasal (0.1 ml) con el agente de la Neumonía Gris del ratón (obtenido de la Universidad de California en San Francisco). Como controles negativos se inocularon 20 embriones con 0.1 ml del diluyente estéril.

En los casos en que se observaron corpúsculos característicos, se inocularon 10 ratones de 21 días de edad por vía nasal, incluyendo los mismos controles positivos y negativos. Los ratones fueron sacrificados 10 días después, y se buscó la presencia de lesiones neumónicas, así como de corpúsculos de inclusión en pulmón.

Con dos de las muestras de pulmón se observaron lesiones sugestivas de clamidias en los embriones, después del tercer pase caracterizadas por hemorragia y congestión de los tarsos. En estos embriones se detectaron corpúsculos de inclusión en saco vitelino semejantes a los producidos por clamidias.

Los ratones inoculados con material de dichos embriones, desarrollaron lesiones macroscópicas caracterizadas por la presencia de neumonía en un 40% de los casos y se detectaron corpúsculos en un 50% de todos los ratones.

Se obtuvieron resultados esencialmente iguales con el agente de la Neumonía gris del ratón, que se utilizó como control positivo. Por otro lado, los embriones y ratones inoculados con diluyente estéril no mostraron lesiones ni se pudo detectar en ellos la presencia de corpúsculos de inclusión.

Dos de los pulmones estudiados indujeron lesiones y la aparición de corpúsculos de inclusión idénticos a los inducidos por

una clamidia conocida, el agente de la Neumonía Gris. Por lo anterior, se puede concluir que se aisló *Chlamydia* spp. probablemente *C. psittaci* a partir de pulmones neumónicos de ovinos mexicanos. Este parece ser el primer informe del aislamiento de dichos agentes en nuestro país.

Dado que las clamidias no muestran especificidad de órgano o de especie animal, se encontró que el mismo microorganismo puede producir una variedad de enfermedades. Así, se ha producido neumonía en ovinos con clamidias aisladas de enteritis y de abortos ovinos (Dungworth y Cordy, 1962) o de neumonía de caprinos (Omori *et al.*, 1953). De eso se deduce que el control de dichos agentes es muy difícil, pues los animales se pueden infectar con clamidias provenientes de otras especies animales que convivan con ellos.

La vacunación con clamidias ha sido exitosa en el caso de los abortos ovinos (Mc Kercher, 1969), pero no se ha intentado para la prevención de neumonías en esta especie. Actualmente ninguna bacterina comercial contra problemas respiratorios de ovinos incluye clamidias. Es probable, sin embargo, que la inclusión de estos agentes en dichos preparados inmunizantes resultara en una mayor eficacia del producto.

Summary

Ten sheep's pneumonic lungs were obtained from a local slaughterhouse. The lesions were homogenized in an streptomycin-containing diluent. The homogenates were inoculated into 6-8 day old chick embryos by the yolk sac. Nine days postinoculation the embryos were harvested and new embryos inoculated for a total of 3 blind passages, after which inclusion bodies were looked for with Giménez' and Machiavello's stains. From the positive samples, ten mice were inoculated intranasally. Two of the sheep samples produced lesions and inclusion bodies both in the embryos and mice. From this it is concluded that *Chlamydia* spp. have been isolated from ovine pneumonic lungs in Mexico.

Literatura citada

- BARTHOLOMEW, J.W., 1973, Methods for Microbiology, 3ª Ed. In: Staining procedures used by the *Biological Stain Commission*.
- BOIDLIN, A.G.; D.R. CORDY and H.E. ADLER, 1959, A pleuropneumonia-like organism and a virus in ovine pneumonia in California, *Cornell Vet.*, 48:410.
- CARMICHAEL, L.; T. ST. GEORGE; N. SULLIVAN and N. HORSFALL, 1972, Isolation, propagation and characterization studies of an ovine mycoplasma responsible for proliferative interstitial pneumonia, *Cornell Vet.*, 62:654-679.
- DUNCWORTH, D.L. and D.R. CORDY, 1962, Isolation of virus from faeces; comparison of pneumonia caused by faecal, enzootic abortion and Pneumonitis viruses, *J. Comp. Path.*, 72:71-79.
- HAMDY, A.H. and W.D. POUNDEN, 1959, Experimental production of pneumonia in Lambs, *Am. J. Vet. Res.*, 20:78-83.
- MARSH, H., 1953, Pasteurella in sheep diseases, *J. Am. Vet. Med. Ass.*, 123:205-208.
- McKERCHER, D.G., 1952, A virus possibly related to the Psittacosis Lymphogranuloma Venereum-Pneumonitis group causing pneumonia in sheep, *Science*, 115:543-544.
- McKERCHER, D.G., 1969, Cause and prevention of epizootic bovine abortion, *J. Am. Vet. Med. Ass.*, 154:1192-1196.
- OMORI, T.; S. ISHII; K. HARADA and N. MURASE, 1953, Study on an infectious pneumonia of goats caused by a psittacosis lymphogranuloma group virus, *Exp. Rep. Gout. Exp. Station Animal Hyg.*, 27:101-119.
- PIJOAN, C., Infecciones mixtas del aparato respiratorio, *Ciencia Veterinaria*, Vol. 2. *Universidad Nacional Autónoma de México* (en prensa).
- PIJOAN, P., 1977, Aislamiento de *Chlamydia* spp. de pulmones neumónicos de ovinos en México. Tesis de Licenciatura, *Fac. de Med. Vet. y Zoot.*, Universidad Nacional Autónoma de México, México, D.F.
- POYNTER and S. SELWAY, 1966, Diseases caused by lungworms. *Helminth Abs.*, 35:105-127.
- STEVENSON, R.G., 1969, Respiratory Diseases of Sheep, *Vet. Bull.*, 39:747-749.
- STEVENSON, R.G. and D.E. HORE, 1970, Comparative pathology of lambs and calves infected with parainfluenza virus type 3, *J. Comp. Path.*, 80: 613-618.