

CLAMIDIOSI FELINA: INDAGINE SIEROEPIDEMIOLOGICA IN DIFFERENTI POPOLAZIONI DI GATTI*

ANTONIETTA DI FRANCESCO¹, MANUELA DONATI², GIORGIO BATTELLI¹,
SILVIA PIVA¹, ROBERTO CEVENINI², RAFFAELLA BALDELLI¹

¹Dipartimento di Sanità Pubblica Veterinaria e Patologia Animale - Facoltà di Medicina Veterinaria
Alma Mater Studiorum - Università di Bologna

²Dipartimento di Medicina Clinica Specialistica e Sperimentale - Facoltà di Medicina e Chirurgia
Alma Mater Studiorum - Università di Bologna

Riassunto

Duecentoventinove sieri di gatti (79 sieri di gatti ospitati in un gattile e 150 sieri di gatti di privati) sono stati saggiati nei confronti di un ceppo aviare e di un ceppo felino di *Chlamydophila* sp., mediante reazione di immunofluorescenza indiretta (IFI). L'IFI omologa ha evidenziato sieroprevalenze maggiori rispetto all'IFI eterologa in entrambe le categorie (68,4% vs 44,3% nei gatti di gattile, 22,7% vs 17,3% nei gatti di privati). La differenza di positività fra le due categorie di soggetti è risultata statisticamente significativa sia in IFI omologa, sia in IFI eterologa. Nessun siero ha reagito nei confronti del solo antigene aviare.

Summary

The prevalence of chlamydial antibodies was investigated in 229 cat sera (79 sera of stray cats and 150 sera of pet cats) by immunofluorescence antibody test, using avian and feline chlamydial antigens. In both populations, the positive rates of anti-feline strain antibodies were higher than that of anti-avian strain antibodies (68.4% vs 44.3% in strays cats, 22.7% vs 17.3% in pet cats). The stray cats appeared to have significantly higher positive rates to feline and avian antigens as compared with the pet cats. None of the sera reacted with the avian strain only.

INTRODUZIONE

La clamidiosi felina, sostenuta da *Chlamydomphila felis*, è una patologia batterica descritta in molti Paesi, a media prevalenza nei gatti domestici e frequentemente endemica nelle collettività feline.

L'infezione si traduce clinicamente in congiuntivite, ad esordio generalmente monolaterale, caratterizzata da iperemia, blefarospasmo, chemosi, scolo oculare sieromucoso o muco-purulento. In alcuni casi si evidenziano segni di rinite, con scolo nasale, occasionali starnuti e ipertrofia dei linfonodi sottomandibolari.

In Italia, precedenti indagini sierologiche in popolazioni feline avevano messo in evidenza, mediante differenti metodiche (fissazione del complemento, ELISA) sieroprevalenze per clamidiosi variabili tra 2 e 15%¹⁻²⁻³. Tali sieroprevalenze risultavano inferiori a quelle evidenziate in altri Paesi, nel corso di analoghe indagini eseguite mediante reazione di immunofluorescenza indiretta (IFI)⁴⁻⁵⁻⁶. Questa discrepanza poteva essere imputata a diversi fattori, quali: minore circolazione dell'agente eziologico nel nostro Paese; differenze nel campionamento delle popolazioni esaminate; tipo di reazione sierologica utilizzata.

In considerazione di quest'ultimo aspetto, abbiamo ritenuto opportuno saggiare in IFI sieri prelevati da gatti di colonia e da gatti di privati, al fine di valutare la reattività nei confronti di antigene omologo (*Chlamydomphila felis*) ed eterologo (*Chlamydomphila psittaci*) ed eventuali differenze di prevalenza relative alle diverse condizioni di vita degli animali.

Articolo ricevuto dal Comitato di Redazione il 26/4/2004 ed accettato per pubblicazione dopo revisione il 24/9/2004.

*Ricerca eseguita con fondi Università di Bologna ex quota 60% anno 2002.

MATERIALI E METODI

Sono stati complessivamente esaminati 229 sieri di gatto, raccolti nel corso di precedenti indagini relative ad altre patologie feline. Settantanove sieri erano stati prelevati, nel periodo 1997-1998, da animali ospitati presso il gattile di S. Clemente (VE); 150 sieri erano stati raccolti, nel periodo 1999-2000, da gatti di privati, salassati nel corso di visite routinarie presso ambulatori della città di Venezia e provincia.

La reazione di IFI è stata eseguita utilizzando come antigeni corpi elementari purificati di un ceppo aviare e di un ceppo felino di clamidia.

Il ceppo aviare era stato isolato da un uomo che presentava segni clinici di polmonite e successivamente tipizzato mediante analisi di restrizione dell'amplificato *omp1*, utilizzando l'enzima *Alu I*.

Il ceppo felino era stato isolato da tampone congiuntivale di un gatto ospitato in una oasi felina in provincia di Bologna. La tipizzazione dell'isolato si era avvalsa dell'amplificazione e sequenziamento dei geni *omp1*, *omp2* e *groEL*⁷.

Entrambi i ceppi sono stati coltivati su monostrati di cellule LLC-MK2 (linea cellulare continua ottenuta da rene di scimmia *Rhesus*).

I corpi elementari sono stati purificati su gradiente continuo di saccarosio 30-60% secondo la metodica di Fukushi e Hirai⁸, risospesi in TRIS 0,01M pH 7,4, congelati a -70°C e al momento dell'uso fissati in acetone su vetrini.

I sieri sono stati sottoposti a screening iniziale saggiando le diluizioni 1:16 e 1:32. La reazione antigene-anticorpo è stata evidenziata mediante anticorpi fluoresceinati di capra anti-IgG di gatto (Euroclone, UK), utilizzati alla diluizione 1:40 e addizionati con blu di Evans 1%. In caso di positività alla diluizione 1:32, considerata titolo soglia⁴, sono state successivamente saggiate diluizioni per raddoppio sino alla determinazione del titolo anticorpale, inteso come reciproco della più alta diluizione del siero in grado di mostrare fluorescenza giallo-verdastra dei corpi elementari. Per valutare statisticamente le differenze di sieroprevalenza fra gatti di colonia e gatti di privati, è stato utilizzato il test del χ^2 .

RISULTATI

In Tabella 1 sono riportati i risultati ottenuti in IFI omologa ed eterologa.

Dei 79 sieri di gatti di colonia, 54 (68,4%) sono risultati positivi in IFI omologa, contro 35 (44,3%) positivi in IFI eterologa, con titoli anticorpali variabili da 1:32 a 1:2048 in entrambe le prove. Dei 150 sieri di gatti di privati, 34

(22,7%) sono risultati positivi in IFI omologa, contro 26 (17,3%) positivi in IFI eterologa, con titoli anticorpali variabili da 1:32 a 1:2048 in entrambe le prove. La differenza di positività fra le due categorie di soggetti è risultata statisticamente significativa sia in IFI omologa ($\chi^2=45,65$; $p<0,01$), sia in IFI eterologa ($\chi^2=19,26$; $p<0,01$).

Per quanto concerne la reattività nei confronti dei differenti antigeni, la positività anticorpale è stata evidenziata nei confronti di entrambi o del solo antigene felino. Nessun siero ha mostrato reattività nei confronti del solo antigene aviare.

DISCUSSIONE E CONCLUSIONI

I risultati ottenuti utilizzando la reazione di IFI omologa mostrano, per entrambe le categorie saggiate, sieroprevalenze maggiori rispetto a quelle evidenziate in IFI eterologa. A tale riguardo recenti studi di analisi genomica⁹ hanno portato a una revisione tassonomica della famiglia *Chlamydiaceae*, classificando i ceppi aviari e i ceppi felini all'interno di due specie distinte (*Chlamydia psittaci* e *Chlamydia felis*). Il saggio con antigene eterologo può quindi aver prodotto una sottostima delle sieroprevalenze. Le positività rilevate in IFI omologa sono peraltro sovrapponibili a quelle evidenziate in altri Paesi mediante la stessa metodica^{4,5}.

La maggiore percentuale di sieropositività riscontrata negli animali ospitati nel gattile rispetto ai gatti di privati può essere imputata alle caratteristiche epidemiologiche dell'infezione che, in considerazione della labilità dell'agente eziologico, richiede per la sua trasmissione uno stretto contatto soggetto infetto-soggetto sano. Tale evenienza è più frequente in collettività feline chiuse (gattili, pensioni, allevamenti), all'interno delle quali spesso gli animali sono forzati a contatti stretti. Questa ipotesi sembra essere confermata dai risultati di indagini condotte in colonie feline libere, nelle quali il tasso di sieroprevalenza per clamidosi è risultato sovrapponibile a quello riscontrato in gatti di privati¹⁰.

Per quanto riguarda i gatti di privati risultati positivi, si trattava di animali provenienti da gattili o da negozi e che vivevano in condizioni di semilibertà, quindi con possibilità di contatto con altri gatti.

Per entrambe le popolazioni, l'anamnesi non ha consentito di correlare la positività anticorpale a quadri clinici riferibili a clamidosi, in quanto la raccolta dei dati era stata finalizzata ad altre patologie.

Peraltro, un certo numero di soggetti, soprattutto tra i gatti di proprietà, ha mostrato, in IFI sia omologa sia eterologa, titoli anticorpali $\geq 1:1024$, sovrapponibili a quelli rilevati in precedenti studi in gatti con infezione clami-

Tabella 1
Risultati IFI omologa ed eterologa

Origine	N. esaminati	Ag	N. positivi*	Titolo anticorpale							
				<32	32	64	128	256	512	1024	2048
Gattile	79	<i>C. psittaci</i>	35 (44,3%)	44	13	12	4	1	3	0	2
		<i>C. felis</i>	54 (68,4%)	25	5	12	19	9	5	2	2
Privati	150	<i>C. psittaci</i>	26 (17,3%)	124	3	6	2	1	7	5	2
		<i>C. felis</i>	34 (22,7%)	116	3	6	3	5	7	7	3

*Soglia di positività 1:32.

diale in atto⁴. Titoli anticorpali inferiori possono essere indicativi solo di un contatto con l'agente eziologico, non definibile cronologicamente, in quanto gatti infettati sperimentalmente con clamidia hanno mostrato titoli anticorpali persistenti per oltre un anno dall'avvenuta infezione¹¹.

Nessun siero ha reagito nei confronti del solo antigene aviario, a differenza di quanto evidenziato in precedenti studi⁵⁻⁶, nei quali, peraltro, la sieropositività rilevata nei confronti dei soli ceppi aviari non è stata supportata da isolamento e tipizzazione batterica.

I risultati qui riportati, oltre a confermare la circolazione di *C. felis* nelle popolazioni di gatti domestici e selvatici in Italia, evidenziano una elevata sieroprevalenza soprattutto all'interno di collettività feline chiuse e indicano l'IFI omologa come la reazione più idonea per la diagnosi sierologica di clamidiosi nel gatto.

Parole chiave

Clamidiosi, gatto, sieroepidemiologia, immunofluorescenza indiretta.

Key words

Chlamydiosis, cat, seroepidemiology, immunofluorescence antibody test.

Bibliografia

1. Piccoli L and Capelli G: Controllo della popolazione felina randagia nella città di Venezia: prime indagini sierologiche per *Toxoplasma gondii* e *Chlamydia psittaci*. Atti XLV Cong. S.I.S.Vet., 45: 1003-1007, 1991.
2. Ferrari A, Mandola ML, Poletti P et al: Ruolo dei felini nella diffusione di *Chlamydia psittaci*: indagine sierologica. Atti XLVI Cong. S.I.S.Vet., 46: 1091-1095, 1992.
3. D'Amore E, Busani L, Nenci M, Sili A: Indagine sieroepidemiologica su sieri di gatti vaganti. Atti LI Cong. S.I.S.Vet., 51: 335-336, 1997.
4. Wills JM, Howard PE, Gruffydd-Jones TJ, Wathes CM: Prevalence of *Chlamydia psittaci* in different cat populations in Britain. J. Small Anim. Pract., 29: 327-339, 1988.
5. Pudjijatmoko, Fukushi H, Ochiai Y et al: Seroepidemiology of feline chlamydiosis by microimmunofluorescence assay with multiple strains as antigens. Microbiol. Immunol., 40: 755-759, 1999.
6. Yan C, Fukushi H, Matsudate H et al: Seroepidemiological investigation of feline chlamydiosis in cats and humans in Japan. Microbiol. Immunol., 44: 155-160, 2000.
7. Di Francesco A, Donati M, Carelle MS et al: Molecular characterisation of a *Chlamydomphila felis* isolate from a cat in Italy. Vet. Rec., 154: 239-240, 2004.
8. Fukushi H and Hirai KJ: Immunochemical diversity of the major outer membrane protein of avian and mammalian *Chlamydia psittaci*. J. Clin. Microbiol., 26: 675-680, 1988.
9. Everett KD, Bush RM, Andersen AA: Emended description of the order Chlamydiales, proposal of Parachlamydiaceae fam. nov. and Simkaniaceae fam. nov., each containing one monotypic genus, revised taxonomy of the family Chlamydiaceae, including a new genus and five new species, and standards for the identification of organisms. Int. J. Syst. Bacteriol., 49: 415-440, 1999.
10. Di Francesco A, Donati M, Battelli G et al: *Chlamydomphila felis*: a seroepidemiological survey among household and feral cats in northern Italy. Vet. Rec., 155: 399-400, 2004.
11. Wills JM: Chlamydial infection in the cat. PhD thesis University of Bristol, 1986.