

## Evaluación de la eficacia en condiciones controladas de una bacterina oleosa enriquecida contra el Síndrome Respiratorio Crónico en pollos de ceba (Evaluation effectiveness of an oil bacterin in opposition to *Mycoplasma gallisepticum*, enriched with an antigenic protein to control the Chronic Respiratory Syndrome in experimental conditions in Broiler chickens)

Muñoz, Daima, C\*; C. Bulnes\*\* y Lobo, Evelyn\*\*

\*Universidad Agraria de La Habana (UNAH), Cuba

\*\* Centro Nacional de Sanidad Agropecuaria (CENSA), Cuba

Contacto por email: [daima\\_munoz@isch.edu.cu](mailto:daima_munoz@isch.edu.cu)

### Resumen

Los programas preventivos y las medidas de bioseguridad por separado, no son suficientes para prevenir a la industria avícola intensiva de hoy contra enfermedades infecciosas, por lo que se ha incrementado en la actualidad el uso de vacunas inactivadas (bacterinas) las cuales se han ensayado en condiciones naturales y experimentales. Con el objetivo de evaluar la eficacia de una bacterina oleosa contra *Mycoplasma gallisepticum*, enriquecida con una proteína antigénica para el control del Síndrome Respiratorio Crónico en condiciones experimentales, se utilizaron un total de 90 pollos de la raza Broiler de 21 días de edad, los cuales se dividieron en tres grupos de 30 animales cada uno. Grupo uno: control placebo, grupo dos: vacunados con la vacuna enriquecida y grupo tres: vacunados con la vacuna convencional. A los 21 días post vacunación los animales fueron confrontados con la cepa R low de *M. gallisepticum*, valorándose el cuadro clínico-lesional presentado en los animales, demostrándose que la bacterina enriquecida utilizada fue eficaz al disminuir significativamente las manifestaciones clínicas respiratorias y la incidencia de lesiones en los animales vacunados.

**Palabras claves:** Bacterina, *Mycoplasma gallisepticum*, clínica, lesiones

### Abstract

Preventive programs and biosecurity measures separately applied are not sufficient to prevent the intensive poultry industry against infections diseases. For this reason, inactivated vaccines are increasingly used today. They are used under natural and experimental conditions. With the objective to evaluate effectiveness of an oil bacterin in opposition to *Mycoplasma gallisepticum*, enriched with an antigenic protein to control the Chronic Respiratory Syndrome in experimental conditions in 90 Broiler chickens of 21 days. They were distributed in three (3) groups, group one: control, group two: vaccinated animals with the enriched vaccine and group three: vaccinated animals with the conventional vaccine. After 21 post vaccination days, animals were confront with the R low strain of *M. Gallisepticum* and valued the clinical alterations and lesions in this animal were valued. It demonstrated the oil enriched vaccine was appropriate to induce decrease of clinical manifestations and lesions in the vaccinated animals.

**Keys Word:** bacterin, *Mycoplasma gallisepticum*, clinical, lesions

### **Introducción:**

El Síndrome Respiratorio Crónico de las gallinas es una enfermedad infecto contagiosa de curso crónico que afecta el sistema respiratorio de las aves, causado por *M. Gallisepticum* (Lobo y col, 2004; Roche y col, 2004) Es una enfermedad causante de grandes problemas en pollos de ceba, ponedoras y reproductoras, presentando una alta incidencia a nivel mundial (Malo, 2005; Kleven, 2000a).

Los animales utilizados para fines experimentales, mantenidos y controlados bajo un sistema de barreras que permite la definición microbiológica de los mismos, garantiza la calidad y eficiencia de las investigaciones en las diferentes áreas de la biomedicina. Bajo condiciones experimentales, la vacunación contra *M. gallisepticum* con bacterinas en forma oleosa, ofrece seguridad en los lotes vacunados, por la no introducción de organismos vivos en los mismos, por las variedades de vías de inoculación, y por la reducción de la ovotransmisión (Frey, 2002), lo cual hacen de las bacterinas, las formulaciones vacunales preferidas por muchos avicultores (Kempf y col, 1997; Alfonso y col, 2004). En correspondencia, los indicadores más empleados para evaluación de eficacias de bacterinas contra *M. Gallisepticum* lo constituye la observación de las manifestaciones clínicas y la presencia de aerosaculitis (Whithear, 2002; Malo, 2005).

### **Materiales y Métodos:**

Se utilizaron 90 pollos comerciales de la raza Broiler, chequeados por cultivo y PCR de exudados traqueales una semana antes de inoculación, así como por la técnica de SAR, determinándose que estaban libres de *M. gallisepticum*, con 21 días de edad, 60 de ellos se vacunaron por la vía subcutánea en la base del cuello, aplicándose una bacterina enriquecida con una proteína antigénica obtenida por vía recombinante a 30 de ellos y la vacuna convencional al resto de ellos durante tres días consecutivos desde el día de edad a un volumen de 0.25 ml.

Las aves se dividieron en tres grupos de 30 animales cada uno:

- Grupo 1.- Control placebo
- Grupo 2.- Vacunados con la vacuna enriquecida ( $1 \times 10^7$  UFC/ml. + 25mg)
- Grupo 3.- Vacunados con la vacuna convencional ( $1 \times 10^9$  UFC/ml.)

A los 21 días post vacunación todos los animales fueron confrontados por las vías seno infraorbital e intratraqueal con la cepa R low de *M. gallisepticum*. Las aves fueron observadas durante los 14 días posteriores a la inoculación, se evaluaron las manifestaciones clínicas (estornudos, disnea, secreción ocular y nasal, inflamación de los senos) y las lesiones macro y microscópicas de los sacos aéreos, tráquea. Se tomaron muestras para el estudio serológico mediante la técnica de SAR y para el reislamiento de la cepa por cultivo de exudados de pulmón, saco aéreo y porción media de la tráquea. También se realizaron exudados traqueales para la detección de *M. gallisepticum* por la técnica de PCR.

Atendiendo a los criterios de evaluación de vacunas expresados por diferentes autores (Rosado, 2001; Cerdá, 2004) se establecieron como criterios de inclusión, los animales libres de micoplasma, determinado por las pruebas de SAR y exudados traqueales para PCR y cultivo; criterios de exclusión, los animales positivos por SAR y/o cultivo o PCR de exudados traqueales previos a la vacunación y criterios de salida, los animales muertos

por razones no atribuibles a la vacunación y/o confrontación.

### Valoración de la eficacia en los animales inoculados con la cepa R low:

Las lesiones encontradas se registraron según su gravedad.

### Criterios de éxito: (Rosado, 2001; Cerdá, 2004)

- No presentación de signos clínicos en más del 70% de los animales confrontados
- Presentación de aerosaculitis en menos del 30% de los animales confrontados

### Criterios de fracaso:

- Establecimiento el cuadro clínico en más del 30% de los animales confrontados
- Presentación de aerosaculitis en más del 70% de los animales confrontados

Como control del experimento a todas las muestras se les realizó el examen bacteriológico, sembrando las mismas en agar sangre, según lo describe el Manual Berguey, 2002 y el Manual de la OIE, 2002.

Para el análisis estadístico de los resultados se utilizó el método de Comparación de proporciones múltiples y Dócima de Duncan.

### Resultados y discusión:

No se registraron reacciones adversas ni muertes en los animales vacunados con ambas formulaciones (grupos 2 y 3). En el grupo 3, correspondiente a los animales vacunados con la vacuna convencional, se encontraron animales en los días dos, tres y cuatro post-vacunación, con descoordinación de movimientos y decaimiento, aspectos que no estuvieron presentes en el grupo 2. De estos resultados se desprende que la vacuna enriquecida, resultó inocua para las aves en la dosis y vía evaluada para la inmunización. La respuesta de anticuerpos a la vacuna enriquecida y convencional, se expresan en la tabla 1, evidenciándose una respuesta positiva (+++) por SAR a partir de los 14 días postvacunación en el grupo 2 con relación al grupo 3. Esto responde a que *M. gallisepticum* tiene la capacidad de generar formas alternativas de epitopes de superficie para producir cambios fenotípicos espontáneos en la expresión de sus lipoproteínas de superficie, mecanismo que le permite la evasión de la respuesta inmune del hospedero a epitopes específicos y la sobrevivencia en los tejidos del mismo (Rosengarten y col. 1996).

**Tabla 1. Resultados de la respuesta de anticuerpos por SAR post-vacunación.**

Grupo	Días post-vacunación		
	7 días	14 días	21 días
I	-	-	-
II	-	+++	+++
III	-	-	+

Los primeros signos clínicos respiratorios fueron, estornudos y disnea, los cuales se

observaron entre los 5 y 6 días post confrontación en la mayoría de los animales del grupo placebo y en algunos de los vacunados donde se expresaron con menor frecuencia. No fueron observados signos clínicos muy severos. Al final del estudio, se evidenció que el grupo con mayor expresión de manifestaciones clínicas, fue el placebo (grupo 1) con un 80% de los animales afectados. Los grupos vacunados 2 y 3 expresaron una proporción de animales con manifestaciones clínicas, estadísticamente menor ( $p < 0.05$ ) (Tabla 2).

**Tabla 2. Manifestaciones clínicas por grupo 14 días post-confrontación.**

Grupo	Manifestaciones clínicas	% de animales afectados
1	24/30 <sup>a</sup>	80%
2	2/29 <sup>cd</sup>	6.8%
3	6/27 <sup>bd</sup>	22%

Letras desiguales difieren por columna  $p < 0,05$

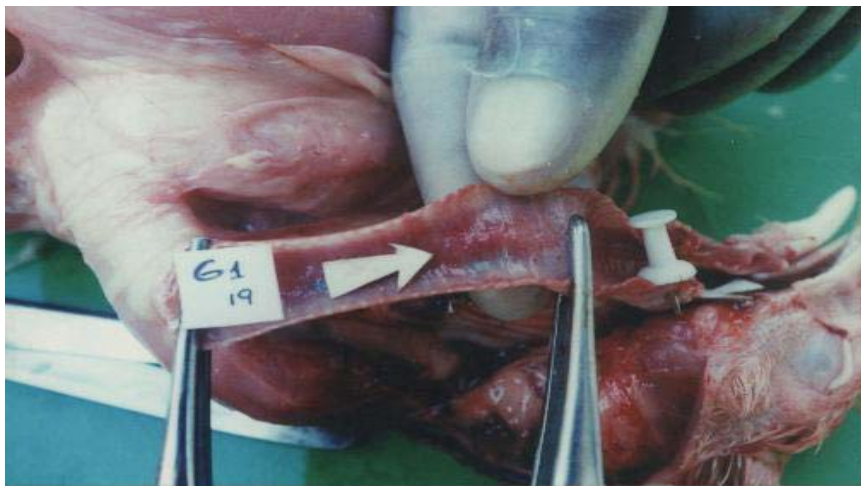
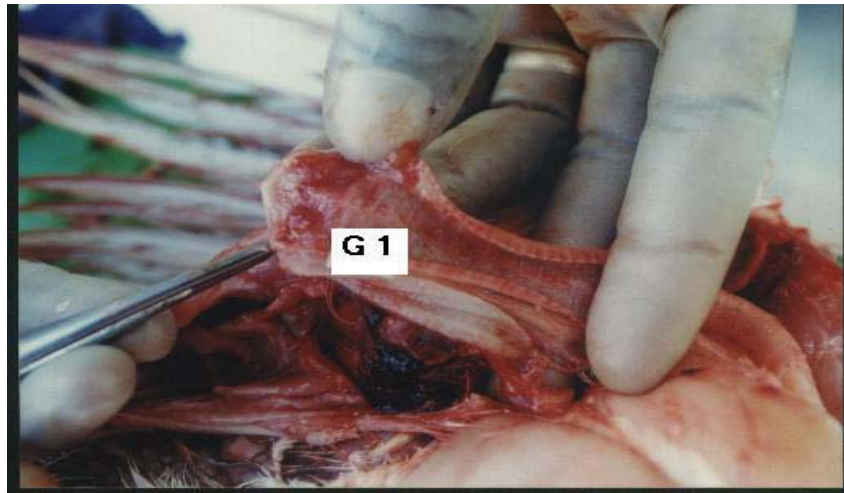
Atendiendo al comportamiento clínico, el porcentaje de protección de las diferentes vacunas estudiadas fue de 93.2% para el grupo 2 y de 78% para el grupo 3. La vacuna enriquecida brindó los mejores índices de protección, siendo estos últimos similares a los reportados para otras del mismo tipo evaluadas bajo condiciones experimentales y de campo en los que se ha planteado que se debe establecer un buen esquema de vacunación contra *M. gallisepticum* que al menos asegure la disminución de la severidad de las lesiones (Kempf y col. 1997).

Los órganos del tracto respiratorio que más se afectaron fueron la tráquea y los sacos aéreos, lo que ha sido igualmente encontrado por otros autores al utilizar la cepa R low de *M. gallisepticum* para la infección experimental de pollos en condiciones controladas (Kempf y col. 1997; Pizarro, 2002).

El cuadro morfológico del tracto respiratorio se caracterizó por la presentación de reacción inflamatoria en tráquea y sacos aéreos fundamentalmente, (traqueitis y aerosaculitis respectivamente) hubo escasa incidencia de neumonía, la que se expresó solo en dos casos del grupo 2 y en tres casos del grupo 3.

Estas respuestas inflamatorias, se caracterizaron en sentido general por la presencia de abundantes hemorragias petequiales afectando las regiones superior y media de la mucosa de la tráquea (fig. 1) acompañadas en casi todos los casos por congestión y un exudado seroso, seromucoso y ocasionalmente mucoso (fig. 2). En la tabla 3, se expresan estos resultados atendiendo a la clasificación por puntos que se estableció para el estudio comparativo entre grupos atendiendo a la gravedad del proceso.

*Fig. 1. Presencia de abundantes hemorragias petequiales en porción superior y media de la tráquea. Animal del grupo 1*



*Fig. 2. Presencia de exudado seromucoso en porción media de la tráquea. Animal del grupo 1.*

**Tabla 3. Incidencia de animales con traqueitis por grupo atendiendo a la gravedad de las lesiones.**

<b>Grupo</b>	<b>S/A(0ptos)</b>	<b>Leve (1-3)</b>	<b>Moderado (4-6)</b>	<b>Severo (7-9)</b>
<b>I(30)</b>	7(23,3%)b	15(50,0%)a	7(23,3%)a	1(3,3%)a
<b>II(29)</b>	14(48,2%)a	13(44,8%)a	2(6,8%)b	0a
<b>III(27)</b>	10(37,03%)ab	11(40,7%)a	6(22,2%)a	0a

Leyenda: S/A. Sin alteraciones.  
 Letras diferentes difieren por columna  $p < 0,05$

Con respecto a las lesiones en los sacos aéreos se encontraron diferencias significativas entre grupos en la proporción de animales sin alteraciones (tabla 4). Esto significa que la evaluación de los sacos aéreos en los estudios de la aplicación de la vacuna, ya sea enriquecida o no, puede ser utilizado como un criterio importante de protección contra la enfermedad lo que coincide con lo descrito por diferentes autores (Lobo, 2000; Kleven, 2000; Frey, 2002, Cerdá, 2005).

**Tabla 4. Incidencia de animales con aerosaculitis por grupo atendiendo a la gravedad de las lesiones.**

Grupo	S/A(0ptos)	Leve (1-3)	Moderado (4-6)	Severo (7-9)
<b>I(30)</b>	13(43,3%)b	6(20,0%)b	9(30,0%)a	2(6,6%)a
<b>II(29)</b>	21(72,4%)a	6(20,6%)b	1(3,4%)b	1(3,4%)a
<b>III(27)</b>	23(85,1%)a	2(7,4%)a	2(7,4%)b	0a

Leyenda: S/A. Sin alteraciones.  
Letras diferentes difieren por columna  $p < 0,05$

En el caso de los sacos aéreos, las lesiones observadas se caracterizaron por opacidad, engrosamiento y presencia de exudado fibrinoso en forma de focos miliareos y en algunos casos formando placas blanco-amarillentas bien consolidadas dispuestas fundamentalmente en los sacos aéreos torácicos (fig. 3).



*Fig. 3. Presencia de aerosaculitis con focos miliareos caseoides. Animal del grupo 1.*

### **Conclusiones:**

- La bacterina oleosa enriquecida fue eficaz al disminuir significativamente las manifestaciones clínicas respiratorias y la incidencia de lesiones en los animales vacunados.
- Atendiendo al cuadro clínico observado en los animales confrontados, se evidenció que la vacuna enriquecida es capaz de proteger en un 92,3% y la convencional en un 78%

### **Bibliografía:**

1. Alfonso, P; Noda, Julia; Viamontes, O. 2004. Avances en el desarrollo de técnicas para revelar contaminación en vacunas aviares y antecedentes históricos. Contaminación en vacunas aviares. Memorias. IV Congreso de Avicultura. Centro Nacional de Sanidad Agropecuaria. Laboratorio de Investigación y Diagnóstico Avícola. Instituto de Investigaciones Avícolas.
2. Cerdá, R. O. Aivlosin. Una nueva molécula para el control de micoplasmas aviares [en línea] julio, 2004. Disponible en: <http://www.ceba.com.co/pollo2.htm> [Consulta: diciembre, 26 2004]
3. Cerdá, R. O. Nuevas estrategias para el control y erradicación de la Micoplasmosis Aviar [en línea] febrero, 2005. Disponible en: <http://www.ceba.com.co/pollo2.htm> [Consulta: abril, 16 2005]
4. Frey, J. 2002. Mycoplasmas of animals. En: Razin, S; Hermann, P. Molecular Biology and pathogenicity of mycoplasmas. Capitulo 4. New York. Klumer Academic Plenum Publisher. p. 299 - 304.
5. Kempf, I; Gesbert, F; Guinebert, E; Guittet, M; Bennejean, G. 1997. Isolation and characterization of Mycoplasma from pheasant breeders. Medicine Veterinary 167 (12): 1133-1139.
6. Kleven, S. H. 2000. Mycoplasma in the etiology of multifactor respiratory disease. Poultry Science 77: 1146-1149.
7. Kleven, S. H. 2000a. Micoplasmosis. Primer seminario de actualización en Patología aviar. Georgia, USA.
8. Lobo, Evelyn; Roche, Caridad. 2000. Micoplasmas patógenos para las aves. Diagnóstico y Control. La Habana. Ediciones CENSA. 5-11 p.
9. Lobo, Evelyn; Martínez, Siomara; Stanley, K; Moscoso, H; García, Maricarmen; Agüero, J. A; Chávez, Yleana;; Rosado, Ileana;; Merino, A. .2004. Aporte científico técnico al conocimiento de la etiología de la Micoplasmosis aviar en Cuba. Memorias. IV Congreso de Avicultura. La Habana. Centro Nacional de Sanidad Agropecuaria. Centro de Diagnostico e Investigaciones aviares. Universidad de Georgia, Atlanta, Estados Unidos. Instituto de Investigaciones aviares.
10. Malo, Aris. Vacunación efectiva en reproductoras [en línea] enero, 2005. Disponible en: [http://www.intervet.com.ve/binaries/84\\_82149.doc](http://www.intervet.com.ve/binaries/84_82149.doc) [Consulta: abril, 2 2005]
11. Manual of Sistematic Bacteriology, Bergey [en línea] agosto, 2002. Disponible en: <http://www.pcca.com/> [Consulta: febrero, 3 2005]
12. Manual de la OIE [en línea] mayo, 2002. Disponible en: <http://www.intervet.com.ve/> [Consulta: mayo, 12 2005]

13. Pizarro, M. 2002. Diagnóstico y control de *Mycoplasma gallisepticum* en la avicultura. Mundo Veterinario 26: 1-7.
14. Roche, Caridad; Barrera, Maritza; Acevedo, Ana. M; González, Y; Martínez, Siomara; Chávez, Yleana. 2004. Detección de anticuerpos contra *Mycoplasma gallisepticum* mediante un ELISA indirecto, empleando un antígeno recombinante. Centro Nacional de Sanidad Agropecuaria. Universidad Agraria de La Habana.
15. Rosado, Ileana. 2001. Obtención y evaluación de un candidato vacunal contra la infección por *Mycoplasma gallisepticum*. Tesis (en opción al grado científico de Doctor en Ciencias Veterinarias. Centro Nacional de Sanidad Agropecuaria.
16. Rosengarten, R; Yorger, D; Wise, K. S. 1996. Molecules Basis of *mycoplasma* surface antigenic variation. EMBO. J. p. 4069-4079.
17. Whithear, K. G. Control de las micoplasmosis aviares mediante vacunación. [En línea]. Rev. sci. tech. Off. int. Epiz. vol. no. 15 (4), 1527-1554. (abril, 2002) Disponible en: <http://www.oie.int> [Consulta: 16 de abril 2005]

Trabajo recibido el 26/04/2006, nº de referencia **090604\_RED VET**. Enviado por su autor principal.  
Publicado en **REDVET®** el 01/09/06. (Copyright) 1996-2006.

[Revista Electrónica de Veterinaria REDVET®](#), ISSN 1695-7504 - [Veterinaria.org®](#) - [Comunidad Virtual Veterinaria.org®](#) - Veterinaria Organización S.L.®

Se autoriza la difusión y reenvío de esta publicación electrónica en su totalidad o parcialmente, siempre que se cite la fuente, enlace con Veterinaria.org -[www.veterinaria.org](#) y **REDVET®** [www.veterinaria.org/revistas/redvet](#) y se cumplan los requisitos indicados en [Copyright](#)

**Veterinaria Organización S.L.®** (Copyright) 1996-2006 Email: [info@veterinaria.org](mailto:info@veterinaria.org)