

# Estudio serológico de agentes asociados con el síndrome respiratorio crónico en gallinas ponedoras

✉ Manuel Colas<sup>1</sup>, Alejandro Merino<sup>1</sup>, Yanina Santana<sup>1</sup>, Yahíma Miranda<sup>1</sup>,  
Natividad Bacallao<sup>1</sup>, Evelyn Lobo<sup>2</sup>, Armando Vega<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Laboratorio de Investigación y Diagnóstico Aviar, LIDA  
Ave. 361, No. 16 632 e/ 166<sup>o</sup> y 184, Reparto Mulgoba, Boyeros, CP 19 290, Ciudad de La Habana, Cuba

<sup>2</sup>Subdirección de Microbiología Animal del Centro Nacional de Sanidad Agropecuaria, CENSA  
Ap 10, San José de las Lajas, La Habana, Cuba  
E-mail: lidaiia@cenai.inf.cu; genetica.avicolas@sih.cu

## RESUMEN

Para evaluar la respuesta serológica de agentes asociados al síndrome respiratorio crónico de las aves, se seleccionaron 120 pollonas de reemplazo de ponedoras, de la raza White Leghorn, que habían recibido todas las vacunas de acuerdo con el programa de inmunización vigente en Cuba. Desde las 12 hasta las 50 semanas de edad, mensualmente se muestrearon estas aves. Las muestras se evaluaron para la detección de anticuerpos contra *Mycoplasma gallisepticum* (mediante seroaglutinación rápida en placa) y *Ornithobacterium rhinotracheale*, contra el virus de la bronquitis infecciosa aviar (mediante ELISA) y el virus de la enfermedad de Newcastle (mediante la inhibición de la hemoaglutinación IHA). Se compararon proporciones de aves positivas a *Mycoplasma gallisepticum*, a *Ornithobacterium rhinotracheale*, y aves rectoras con títulos de la IHA superiores a 1/8, y se hizo un análisis de varianza simple para las medias geométricas de los títulos de anticuerpos contra bronquitis infecciosa aviar. Los niveles de significación en ambos análisis fueron de  $p < 0.05$ , apoyados en los paquetes estadísticos Comprop-1 y Statgraphics Plus 5.1. Los resultados corroboraron la presencia de *Mycoplasma gallisepticum*, observándose reacciones positivas a *O. rhinotracheale* por primera vez en gallinas ponedoras afectadas por el síndrome respiratorio crónico. La cinética serológica en la población de aves vacunadas contra la bronquitis infecciosa aviar mostró una segunda seroconversión, posiblemente relacionada con la circulación del agente. No se evidenció respuesta serológica a la infección con la enfermedad de Newcastle. Se debe continuar el estudio de aislamiento y caracterización de los diferentes serovares de *O. rhinotracheale* en gallinas ponedoras afectadas por el síndrome respiratorio crónico.

**Palabras clave:** cinética de anticuerpos, *Mycoplasma gallisepticum*, *Ornithobacterium rhinotracheale*, enfermedad de Newcastle, bronquitis infecciosa aviar, síndrome respiratorio crónico

Biotecnología Aplicada 2010;27:227-231

## RESUMEN

**Serological study of agents associated to chronic respiratory syndrome in laying hens.** In order to evaluate the serological response to agents associated to chronic respiratory syndrome in poultry, 120 White Leghorn replacement layers, having received all the vaccines of the immunization program currently applied in Cuba, were selected and sampled monthly from the 12th to the 50th week of age. The samples were assayed for antibodies against *Mycoplasma gallisepticum* (by fast serum plate agglutination), *Ornithobacterium rhinotracheale* and Avian Infectious Bronchitis Virus (by ELISA), and Newcastle Disease Virus (by hemagglutination inhibition assay, HIA); comparing the proportion of birds positive to *Mycoplasma gallisepticum*, *Ornithobacterium rhinotracheale*, or with HIA titers higher than 1/8, and performing an analysis of variance for the geometric means of the antibody titers against the Avian Infectious Bronchitis Virus at  $p < 0.05$  for statistical significance, as implemented in the Comprop-1 and Statgraphics Plus 5.1 statistical software packages. The results corroborated the presence of *M. gallisepticum* and provided the first evidence of positive reactions to *O. rhinotracheale* in laying hens with chronic respiratory syndrome. The serological kinetics of the bird population vaccinated against avian infectious bronchitis evidenced a second seroconversion event, probably due to the circulation of this infectious agent. No serological responses against Newcastle Disease Virus were detected. Further studies for the isolation and characterization of different *O. rhinotracheale* serovars from laying hens with chronic respiratory syndrome are required.

**Keywords:** antibody kinetics, *Mycoplasma gallisepticum*, *Ornithobacterium rhinotracheale*, Newcastle disease, avian infectious bronchitis, chronic respiratory syndrome

## Introducción

El síndrome respiratorio crónico (SRC) de las gallinas es una enfermedad infectocontagiosa, que provoca grandes pérdidas económicas a la industria avícola mundial [1, 2]. En Cuba, recientemente se demostró que constituye el 20% de las enfermedades infectocontagiosas que afectan a las gallinas ponedoras [3], y se considera la segunda causa de muerte en este grupo, según datos epidemiológicos señalados por la Unión de Empresas del Combinado Avícola Nacional (UECAN) [4]. En la presentación de esta enfermedad

intervienen diversos factores ambientales y de manejo de las aves, además de agentes bacterianos y virales, que pueden desencadenar y agravar el proceso respiratorio [5].

Entre los agentes bacterianos asociados al SRC se destacan *Avibacterium paragallinarum* (*A. paragallinarum*), *Pasteurella multocida* (*P. multocida*), *Mannheimia haemolytica* (*M. haemolytica*), *Ornithobacterium rhinotracheale* (*O. rhinotracheale*), *Staphylococcus spp.*, *Escherichia coli* (*E. coli*) y *Mycoplas-*

1. Rosado I, Ruedas D, Sánchez L, Acosta I, Véliz T, Lobo E, et al. Evaluación de la eficacia en condiciones controladas de una bacteria oleosa contra *Mycoplasma gallisepticum*, obtenida en fermentadores de 7L. Rev Cubana Cienc Vet 2003; 28(1):43-5.

✉ Autor de correspondencia

*ma gallisepticum* (*M. gallisepticum*) como el agente principal [6, 7]. Sin embargo, en los últimos años se ha reportado también la presencia de cepas altamente patógenas de *Mycoplasma synoviae*, que provocan lesiones típicas del SRC [8].

Los agentes virales asociados con este síndrome son el virus de la enfermedad de Newcastle (ENC), la influenza aviar, el virus de la bronquitis infecciosa (BI) aviar, el metaneumovirus aviar y el virus de la laringotraqueitis infecciosa aviar, que se combinan con los agentes bacterianos y originan un cuadro clínico patológico más severo [9].

En muchos países, los virus neumotrópicos se controlan mediante acciones de bioseguridad y la aplicación de vacunas vivas e inactivadas, que confieren una respuesta inmune específica [10-16]. En Cuba hay programas de inmunización contra la BI y la ENC, con vacunas vivas administradas a reproductores y vacunas inactivadas a ponedoras [17].

Varios autores [18, 19] refieren que se han efectuado ensayos en condiciones naturales y experimentales con vacunas inactivadas que se encuentran en el mercado, para el control de especies patógenas de micoplasmas aviarios. Otros plantean que hay vacunas en la industria avícola para el control de las principales serovariedades de bacterias asociadas con el SRC, como *P. multocida* [20], *A. paragallinarum* [21], *O. rhinotracheale* [22].

Actualmente, el control de los agentes bacterianos en Cuba se logra con medidas y prácticas de bioseguridad, que son útiles para la prevención de enfermedades exóticas y el control de las endémicas [23].

El diagnóstico de los principales agentes virales y bacterianos involucrados en el SRC, se logra por diferentes técnicas, que van desde el aislamiento hasta las moleculares. Las más utilizadas en los monitoreos serológicos son la seroaglutinación rápida en placa (SAR), la inhibición de la hemoaglutinación (IHA) y los ensayos de ELISA [24, 25].

En Cuba, donde las aves se someten a una inmunización intensiva establecida mediante programas masivos, y se establecen medidas y prácticas de bioseguridad, continúan presentándose brotes de enfermedad respiratoria con alta morbilidad y baja mortalidad. Estos ocasionan afectación del potencial genético, productivo y reproductivo, y traen consigo un aumento de las pérdidas económicas. Tales pérdidas se traducen en una disminución de la producción de huevo y carne, y un aumento de los gastos por concepto de medicación. Por estas razones, nos propusimos evaluar la respuesta serológica de los agentes asociados con el síndrome respiratorio crónico en gallinas ponedoras.

## Materiales y métodos

### Selección de las aves

Para este estudio se seleccionaron 120 pollonas de reemplazo de ponedoras de la raza *White Leghorn* de 12 semanas de edad, identificadas mediante bandas de ala, procedentes de una Unidad de Producción Avícola de la provincia de La Habana. A las 16 semanas, se trasladaron hacia una Unidad de Ponedoras Comercial, con un sistema de producción de edades múltiples y antecedentes de procesos respiratorios. La alimentación fue balanceada, según las indicaciones del instructivo técnico o las vigentes en Cuba.

### Esquema de inmunización

Se vacunó a las aves de acuerdo con el programa de inmunización vigente en Cuba (Instructivo técnico, 2007) (Tabla). Se decidió aplicar una cuarta vacunación contra ENC, debido a los bajos porcentajes de aves rectoras con títulos de IHA, posteriores a las tres primeras dosis aplicadas.

### Toma de muestras

A partir de la semana 12 y hasta la 50, mensualmente se tomó muestras de sangre, por punción de la vena marginal del ala, con tubos estériles sin anticoagulante, que permanecieron a temperatura ambiente hasta la formación del coágulo, y luego se dejaron a 4 °C durante toda la noche. Al día siguiente, el suero se obtuvo por centrifugación de los tubos a 3000 rpm durante 20 min. Este se dividió en dos fracciones de 500 µL, que se mantuvieron a -20 °C hasta su evaluación, según la metodología descrita por la Administración de Alimentos y Drogas (FAO), de Estados Unidos (2004) [26].

### Estudios serológicos

El estudio serológico para demostrar de manera indirecta la presencia de aves rectoras a *M. gallisepticum* y *O. rhinotracheale* fue hasta las 38 semanas y se extendió hasta la semana 50 para las aves rectoras a los virus de la BI y de la ENC.

### Seroaglutinación rápida en placa (SAR)

Se utilizó antígeno coloreado de *M. gallisepticum* comercializado por Laboratorios Intervet, y se siguieron las indicaciones del fabricante. Se mezclaron 200 µL del suero con igual volumen del antígeno específico sobre una lámina de cristal, que se hizo rotar de 2 o 3 minutos. La reacción se consideró positiva cuando se observó la formación de grumos definidos, en el tiempo señalado [23].

### Inhibición de la hemoaglutinación (IHA)

Para la determinación de anticuerpos contra el virus de la ENC se emplearon microplacas de fondo en U, y el método beta. El volumen de cada uno de los reactivos fue de 50 µL. Se realizaron diluciones seriadas logaritmo base 2 de los sueros en solución amortiguadora (PBS) a pH 7.2-7.4, a las que se les añadieron 4 unidades hemoaglutinantes (4 UHA) del antígeno viral, y se incubaron a temperatura ambiente (TA) durante 30 minutos. Seguidamente se adicionaron eritrocitos de pollo al 1%, que se incubaron a TA durante 30 minutos. En todas las placas se dejaron pocillos controles de 4 UHA y de glóbulos rojos.

Tabla. Esquema de vacunación contra la bronquitis infecciosa aviar y la enfermedad de Newcastle en gallinas ponedoras y sus reemplazos con vacunas vivas de la empresa Labiofarm

Unidad/Categoría	Edad de vacunación (días)	
	Bronquitis infecciosa aviar (cepa H120)	Newcastle (cepa La Sota)
Inicio ponedora	1	7
Reemplazo de ponedora	35	49
	85	90
Ponedora	-	228*

\*Cuarta dosis fuera del esquema de vacunación.

2. Burch D. Revisión de la actividad del tiamulin contra el *Mycoplasma* spp. y su uso en la prevención de la transmisión vertical en reproductoras ponedoras. En: Memoria del XXI Congreso Latinoamericano de Avicultura, 6-10 oct.; Ciudad de La Habana, Cuba; 2009, p. 394-8.

3. Colas M, Santana Y, Merino A, Mojena K, Correa A. Frecuencia de presentación de las principales enfermedades en ponedoras White Leghorn. Rev Cubana Cienc Avic 2006;30(2):103-6.

4. Informe de balance del Instituto de Investigaciones Avícolas; 2007. Comportamiento de las enfermedades infectocontagiosas en el periodo 2000-2007, p. 2.

5. Guadalupe A. Implementación del diagnóstico de *Mycoplasma gallisepticum* y *Mycoplasma synoviae* mediante PCR-RFLP en aves de producción. Tesis en opción al grado de Máster en Ciencias Veterinarias con especialidad en Salud Animal. Universidad Autónoma de Nuevo León; 2005.

6. Kleven SH. Micoplasmosis. En: Primer seminario de actualización en patología aviar. Merial-Cervál, Georgia, Estados Unidos; 2000.

7. Ricci, M. Prevención y control de los micoplasmas aviarios. Avicultura Profesional 2007;25(2):16-8.

8. Cerdá R. Interpretación de los resultados del diagnóstico de micoplasmas aviarios. En: Memoria del XXI Congreso Latinoamericano de Avicultura; 6-10 oct.; Ciudad de La Habana, Cuba; 2009. p. 353-7.

9. Icochea Eliana. Diagnóstico diferencial de enfermedades respiratorias en aves bajo condiciones de campo y de laboratorio. En: Memoria del XXI Congreso Latinoamericano de Avicultura; 6-10 oct.; Ciudad de La Habana, Cuba; 2009. p. 413-20.

10. Dave C. Severe acute respiratory syndrome vaccine development: experiences of vaccination against avian infectious bronchitis coronavirus. Avian Pathology 2003;32(6): 567-82.

11. Osman E. Evaluation of three different vaccination regimes against Newcastle disease in central Anatolia Turk. J Vet Anim Sci 2003; 27:1065-9.

12. Hidalgo H. Influenza aviar: experiencia en el control y erradicación. Avicultura profesional 2006;24(1):10-2.

13. Lozano B, Castro F, Suárez A, Gual F, Safati D, Soto E. Presente y futuro de las vacunas aviarias de nueva tecnología. Avicultura profesional 2006;24(3):14-6.

14. Kannan G. Avian Metpneumovirus: Diagnosis and Prevention. World Poultry 2007;23(5):35-7.

### Método ELISA para la detección de anticuerpos contra el virus de la BI y *O. rhinotracheale*

Se emplearon juegos comerciales de la firma Flock Chek para el virus de la BI y el *O. rhinotracheale*, y se usaron de acuerdo con las instrucciones del fabricante. Las placas de 96 pocillos se recubrieron con el antígeno, y se les adicionó las muestras de sueros problemas diluidas 1/500, y los sueros controles positivos y negativos. Posteriormente se adicionó el conjugado anti-IgG de pollo con peroxidasa y a continuación se añadió el sustrato de tetrametil bencidina. La reacción se detuvo después de 15 min a temperatura ambiente con solución de parada. La lectura se realizó a 650 nm en un lector de placas (PR-521, Plate Reader, SUMA). El volumen de cada uno de los reactantes fue de 100 µL. Entre los pasos, se realizó varios lavados con agua destilada (5 veces), y se incubaron a temperatura ambiente durante 30 min. La interpretación de los resultados siguió las recomendaciones del fabricante. Se consideraron aves rectoras positivas a al virus de la BI aquellas cuyos títulos fueron iguales o superiores a 396, y rectoras positivas al *O. rhinotracheale* a partir del coeficiente de muestras positivas (CMP) igual o superior a 0.4, el cual se obtuvo mediante el cálculo de los valores de absorbancia resultante de la placa, según la fórmula:

$$\text{CMP} = \frac{\text{Absorbancia X de la muestra} - \text{Absorbancia de control negativo X}}{\text{Absorbancia de control positivo X} - \text{Absorbancia de control negativo X}}$$

### Análisis estadístico

Se compararon las proporciones de las aves positivas a *M. gallisepticum* y a *O. rhinotracheale*, de las aves rectoras con títulos IHA frente a la ENC superior a 1/8, y se hizo un análisis de varianza simple (Anova) para las medias geométricas de los títulos de anticuerpos a bronquitis infecciosa aviar, utilizando los paquetes estadísticos Comprop-1 y Statgraphics Plus 5.1.

### Resultados y discusión

En Cuba, entre los segmentos de la cadena productiva de las gallinas ponedoras y sus reemplazos, los procesos respiratorios se presentan con mayor frecuencia en las ponedoras; o sea, a partir de las 16 semanas de edad [27]. Las investigaciones serológicas de disímiles autores han revelado la presencia de *M. gallisepticum* y de virus de la VBI neumotrópicos y la ENC en muestras de sueros de aves afectadas por procesos respiratorios complicados [28-34].

En el presente estudio se detectaron aves rectoras positivas a *M. gallisepticum* y *O. rhinotracheale* (Figuras 1 y 2), lo que sugiere la presencia de una infección por ambos microorganismos, debido a que no fueron sometidas a programas de inmunización específicos contra ellos.

En el estudio del comportamiento de las aves rectoras a *M. gallisepticum* (Figura 1), a partir de las 16 y hasta las 25 semanas de edad, se apreció un incremento significativo del número de estas aves, con respecto a las semanas anteriores. Hallazgos similares reveló Rosado en el 2001 [25], quien demostró, mediante la técnica ELISA, una alta circulación de *M. gallisepticum* en ponedoras afectadas por SRC en todas las provincias cubanas; importante factor de la disminución

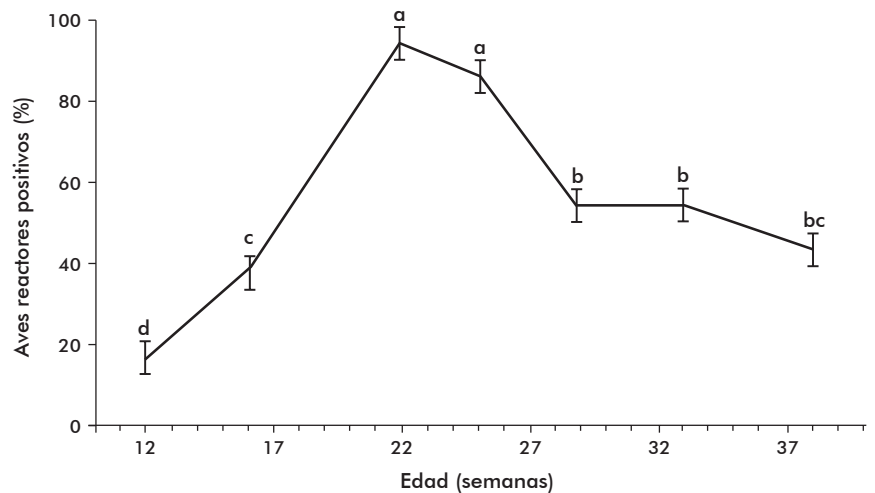


Figura 1. Proporción de aves rectoras positivas a *Mycoplasma gallisepticum*. Se analizaron 120 muestras mediante seroaglutinación rápida en placa, y se consideraron positivas las muestras en las que hubo aglutinación. Los datos están transformados en frecuencia  $\pm$  error estándar 0.05. Letras desiguales difieren para  $p < 0.05$ . Comparación de proporciones.

de la puesta de huevos que presentó la avicultura. Para que *M. gallisepticum* exprese el proceso clínico-patológico, deben estar influyendo otros factores como desórdenes de la alimentación, traslados inadecuados de las aves en los lotes múltiples, y mal manejo de estas, que traen como consecuencia la disminución de la capacidad de resistencia, y la afectación de los momentos más críticos de la gallina ponedora en su madurez sexual y el pico de postura [35-37]. Valencia en 2007 [38] señaló otros factores que pudieran propiciar el aumento de la proporción de aves rectoras a *M. gallisepticum*, también revelado en este trabajo. Estos son el polvo y la concentración elevada de amoníaco del galpón, que afectan el sistema respiratorio superior y causan ciliostasis, aumento en la producción de mucus, que provoca mayor adherencia de otras bacterias al epitelio respiratorio, y se inicia un proceso septicémico bacteriano, especialmente por *E. coli*, que es la enterobacteria más prevaleciente dentro del galpón.

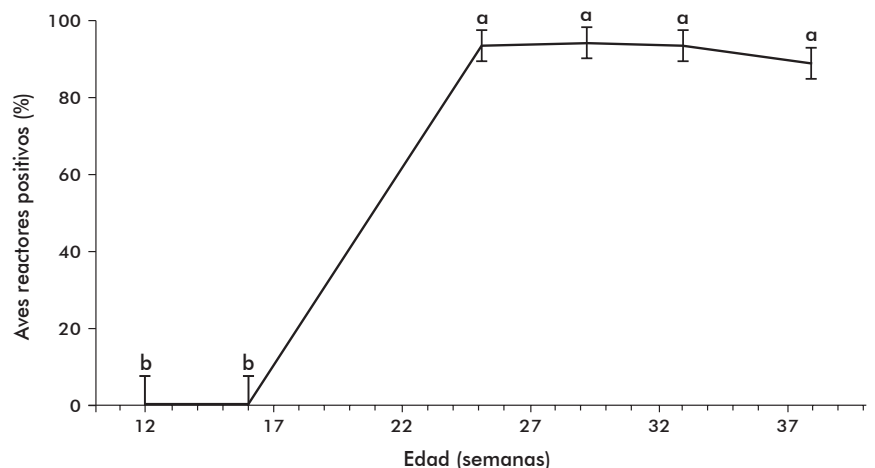


Figura 2. Proporción de aves rectoras positivas a *Ornithobacterium rhinotracheale*. Se analizaron 120 muestras mediante ELISA comercial, y se consideró como coeficiente de muestras positivas, los valores superiores a 0.4. Los datos están transformados en frecuencia  $\pm$  error estándar 0.05. Letras desiguales difieren para  $p < 0.05$ . Comparación de proporciones: 5.

15. Alzamora L, Andina I. Prevalencia de la enfermedad de Newcastle en América Latina. *Avicultura Profesional* 2008;26(5): 10-3.

16. Aziz T. Laringotraqueitis infecciosa. *World Poultry* 2009;25(6):28-30.

17. Viamontes O. Impacto económico de una adecuada estrategia de inmunización contra la enfermedad de Newcastle. *Memorias del V Congreso de avicultura*; 2006. p. 474.

18. Whithear KG. Control de las micoplasmosis aviares mediante vacunación. *Rev Sci Tech Off Int. Epiz* 2002; 15(4):1527-54. [En línea.] Consultado: 16 de octubre de 2008. Disponible en: <http://www.oie.int>

19. Malo A. Vacunación efectiva en reproductoras. [En línea.] Consultado: 2 de abril de 2008. Disponible en: [http://www.intervet.com.ve/binaries/84\\_82149.doc](http://www.intervet.com.ve/binaries/84_82149.doc)

Cerdá y otros [39] señalan que *O. rhinotracheale* es una bacteria gramnegativa pleomórfica, asociada con enfermedades respiratorias en pavos, pollos parrilleros, gallinas reproductoras y ponedoras. Su aislamiento y reconocimiento como agente patógeno en las aves comerciales fue a inicios de la década de 1990 por Vandamme y colaboradores [40]. Sin embargo, en Cuba no hay estudios que evidencien la presencia de este microorganismo.

En este trabajo, mediante la prueba de ELISA comercial, se evaluaron los sueros de las aves positivas a *O. rhinotracheale* (Figura 2). En los dos muestreos iniciales correspondientes a las semanas 12 y 16, la respuesta serológica de las aves a *O. rhinotracheale* fue negativa ante una infección por este microorganismo.

Es preciso destacar el aumento significativo persistente de la proporción de aves rectoras positivas desde la semana 25 hasta la 38. Tales resultados son muy similares a los de Cerdá y cols. [39] en estudios seroepidemiológicos de aves positivas a *O. rhinotracheale*, mediante la utilización del ensayo de ELISA, en países con alta producción avícola. Estos revelaron que en Estados Unidos 95% de gallinas ponedoras fueron positivas a este agente patógeno, y en Alemania, lo fueron el 96.6% de las reproductoras pesadas, entre las 14 y las 36 semanas de edad.

Las aves positivas asintomáticas que se mantienen en una población avícola intensiva, pueden padecer un ligero aumento de la mortalidad, puede ocurrir una disminución de la producción de huevos y un deterioro de la cáscara [6, 41]. Ello pudiera estar relacionado con los resultados de este trabajo, que reveló un alto porcentaje de estas aves, luego de las 25 semanas.

Varios autores reportan que la asociación de *M. gallisepticum* con *O. rhinotracheale*, unido al manejo deficiente de las aves, agravan la aparición del SRC [9, 22, 40]. El alto número de aves rectoras positivas a estos microorganismos pudiera estar relacionado con que, eventualmente, a las 21 semanas de edad aparecieron signos clínicos y lesiones de un proceso respiratorio agudo que afectó las vías respiratorias altas, caracterizado por rinitis serocatarral, lagrimeo, conjuntivitis, edema facial e hipoplasia genital. Este proceso siguió un curso crónico, con afectación de las vías respiratorias bajas, que reveló tumefacción facial caseosa de consistencia dura con pérdida de la visión, rinitis mucofibrinosa, caquexia, atrofia serosa de la grasa subcutánea y del surco coronario, neumonía focal del lóbulo anteroventral unilateral y diarreas. Estos resultados coinciden con los de varios autores [42, 43] que refirieron un cuadro clínico-patológico similar en aves afectadas por el SRC.

Otro microorganismo de importancia asociado con el SRC es el coronavirus causante de la BI, que tiene un tropismo especial por los tractos respiratorio, reproductivo y renal. Afecta a las aves de cualquier edad; pero es más severo en aves jóvenes y en sistemas intensivos de producción, y ocasiona problemas para la aplicación adecuada de los procesos de bioseguridad [38]. Para el control de la BI en la producción intensiva de aves en Cuba, se inmunizan las de reemplazo de ponedora, y se chequea la respuesta serológica en las ponedoras. Ello permite conocer el estado de protección o evidencia de infección viral, cuando se utiliza una cinética a diferentes tiempos de posvacunación [33, 34].

Las medias geométricas de los títulos de anticuerpos a la BI (Figura 3) revelaron que a partir de la tercera vacunación hay un incremento en los títulos de anticuerpos (Ac), que comienza a las 16 semanas, y cuyo pico máximo de expresión es a las 22 semanas. Esto coincide con el estudio de Cavanagh en 2003 [44], en que plantea que varias aplicaciones de una vacuna contra la BI son mucho más eficaces; y con lo referido por Acevedo en 2010 [45], de que los títulos de anticuerpos pueden mantenerse por un tiempo más prolongado, pero que comienzan a declinar a los tres meses de la vacunación.

Sin embargo, en la semana 33, en las aves asintomáticas se aprecia otro incremento en los títulos de Ac contra la BI. Ello pudiera estar relacionado con la infección de otra cepa viral, y no con la persistencia del virus vacunal, ya que coincidentemente una semana antes, en otro lote de aves, con edad entre 9 y 10 meses de postura, se presentó un proceso respiratorio complicado, similar al revelado en este estudio. A partir de muestras clínicas de estas aves que presentaban altos títulos de Ac a la BI, Acevedo y cols. en el 2010 [45] aislaron embriones de pollo, e identificaron una cepa del virus de la BI, mediante un ensayo de transcripción reversa acoplado a la reacción en cadena de la polimerasa (RT-PCR), que pudiera diferir de la cepa vacunal. En 2007, Valencia [38] señaló que existen variantes del virus de la BI, que continúan apareciendo, y muchas de estas circulan en pollos saludables.

Shane [46], por su parte, refiere que uno de los factores que ha contribuido al surgimiento de las cepas variantes, puede ser la persistencia de las cepas vacunales del virus de la BI entre las aves que las reciben, pues algunos estudios recientes han demostrado que la diseminación del virus a partir de la tráquea y de la cloaca puede continuar hasta los 70 días después de la vacunación. Además, es posible aislar virus viable de la BI a partir de los pulmones y de los riñones de las aves previamente vacunadas, hasta 170 días, aunque se les mantenga en aislamiento.

En nuestro estudio, la proporción de aves rectoras con títulos de Ac a IHA contra la ENC superior a 1:8,

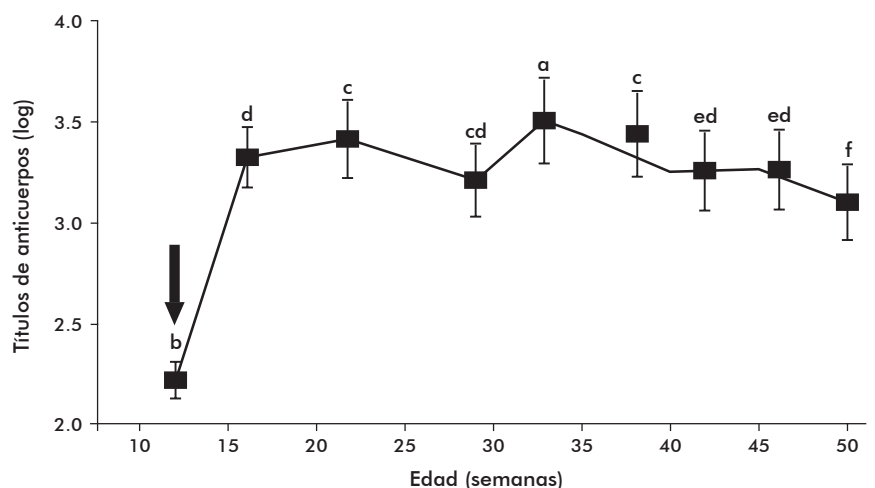


Figura 3. Comportamiento del logaritmo de la media geométrica de los títulos de anticuerpos al virus de bronquitis infecciosa aviar. Se analizaron 120 muestras mediante ELISA comercial. La flecha indica el momento de aplicación de la tercera dosis de la vacuna. Letras desiguales difieren para  $p < 0.05$ . Anova. Stargraphics Plus.

20. Leotta GA, Vigo GB, Chinen I, Prieto M, Callejo R, Rivas M. Identificación, biotipificación y caracterización de cepas de *Pasteurella multocida* aisladas en la Argentina. *Rev Argent Microbiol* 2006; 38(3):125-9.

21. Terzolo HR. Revisión de coriza infecciosa. Propuesta de Investigación 2005. [En línea.] Consultado: 1 marzo 2008 Disponible en: [www.produccion-animal.com.ar](http://www.produccion-animal.com.ar)

22. Chung-Hsi CA, Shin-Ying LA, Chiou-Lin CB, Hsiang-Jung, T. Use of Random Amplified Polymorphic DNA Analysis and Single-Enzyme Amplified Fragment Length Polymorphism in Molecular Typing of *Ornithobacterium rhinotracheale* Strains. *Avian Dis* 2009;53:108-14.

23. Merino LA. Conferencias de bioseguridad. Curso de patología y epizootiología aviar. Folletos 2009. p. 1-30.

24. Crespo del Pilar M. El diagnóstico viral por el laboratorio. *Rev Colombia Médica* 2000;31:135-50.

25. Rosado I. Obtención y evaluación de un candidato vacunal contra la infección por *Mycoplasma gallisepticum*. Tesis en opción al grado científico de Doctor en Ciencias; Universidad Agraria de La Habana. Centro Nacional de Sanidad Agropecuaria; 2001.

26. FAO. Chapter 3. Vaccination. A Technology Review: Newcastle Disease. 2004. p. 21-7.

27. Boado E, Laurent R, Herrera C, Quintero D, Cánovas A. Prevalencia de las principales enfermedades en las diferentes categorías de aves durante las épocas del año. *Rev Cubana Cienc Avic* 1991;18(3): 257-62.

28. Guilarte O, Viamontes O, Cánovas A, Acosta I, González R, Trujillo A, Núñez L. Identificación de los niveles de anticuerpos contra el virus de la bronquitis infecciosa y el virus de Newcastle en aves afectadas con la enfermedad respiratoria crónica. *Rev Cubana Cienc Avic* 1985;12(1):15-22.

29. González R, Viamontes O, Fonseca C. Análisis de los resultados serológicos de la prueba de HI en ponedoras vacunadas por aspersión con la cepa La Sota del virus de la enfermedad de Newcastle. *Rev Cubana Cienc Avic* 1986;13(2):129-36.

evidenció que las aves rectoras no se corresponden con una posible infección viral por ENC (Figura 4).

La respuesta posvacunación fue relevante, pues se logró la inmunización del 100% de las aves rectoras positivas, después de aplicada la cuarta dosis de la vacuna. Ello corrobora la eficacia de la vacuna, señalada por Viamontes y cols. en el 1991 [47], que inhibe o reduce la excreción o multiplicación del virus en las aves, por lo que disminuye la mortalidad y aumentan los resultados productivos. Atendiendo a este resultado, concluimos que en la población analizada no se encontró el virus de la ENC asociado con el SRC.

Este trabajo permitió corroborar la presencia de *M. gallisepticum*, y observar por primera vez la presencia de aves rectoras positivas a *O. rhinotracheale* entre ponedoras afectadas con el síndrome respiratorio crónico. El estudio serológico en aves vacunadas contra la BI, mostró una seroconversión que pudiera estar relacionada con una circulación de este agente en la población analizada, lo cual constituye un peligro potencial en la avicultura. En la evaluación de las aves vacunadas contra la ENC, no se evidenciaron títulos IHA, correspondientes a una infección, pero sí hubo una respuesta posvacunación adecuada. Estos resultados revelan la situación epidemiológica cubana, y ayudan a tomar medidas más eficaces para el control de estas enfermedades. Recomendamos profundizar en el conocimiento de los serovares de *O. rhinotracheale*, y del síndrome respiratorio crónico en las aves, así como su relación con otros microorganismos.

## Agradecimientos

Se agradece a las técnicas del laboratorio del área de Anatomía Patológica del Laboratorio de Investigación

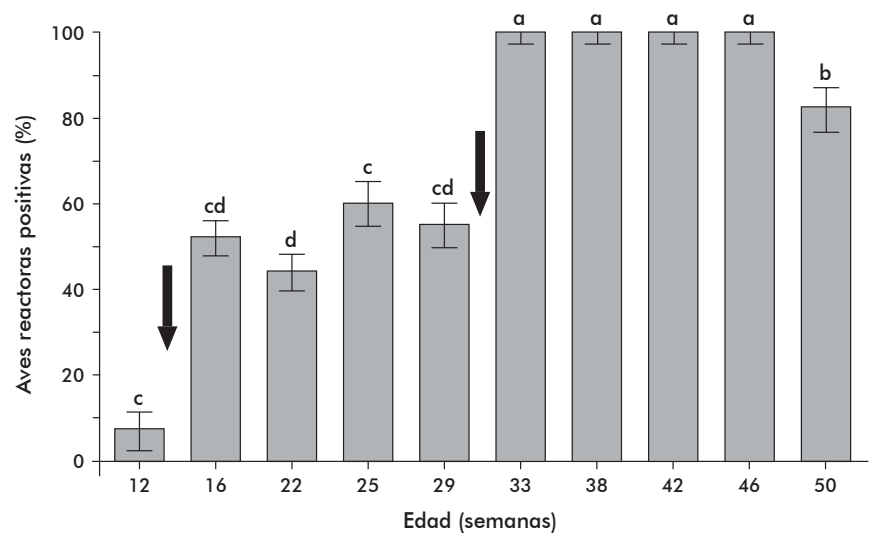


Figura 4. Proporción de aves rectoras positivas al virus de enfermedad de Newcastle (ENC), con títulos de IHA superiores a 1/8. Se analizaron 120 muestras, mediante inhibición de la hemoaglutinación (IHA). La flecha indica la edad de aplicación de la tercera y la cuarta dosis de la vacuna de ENC. Los datos están transformados en frecuencia y  $\pm$  E.E (error estándar) 0.05. Letras desiguales difieren para  $p < 0.05$ . Comparación de proporciones: 5.

y Diagnóstico Aviar: Elsa Bacallao, Arisel Correa, Kirenia Mojena y a Dayamí Millo, jefa técnica del territorio del UECAN de San Antonio de los Baños, por su apoyo durante el muestreo de campo y el procesamiento de las muestras; así como a las doctoras Sandra Cuello y Julia Noda, del Centro Nacional de Sanidad Agropecuaria, por su colaboración en la interpretación de los resultados serológicos.

30. Quintero D. Las pruebas de la hemoaglutinación e inhibición de la hemoaglutinación en la serología de la enfermedad de Newcastle. I. Rev Cubana Cienc Avic 1989;16(1):81-9.

31. Masdeu V, Acosta I, Rejo T, Espinosa V, Herrera C, Hernat R, Díaz G. Características de los procesos respiratorios mediante el diagnóstico serológico y el cuadro clínico lesional. Rev Cubana Cienc Avic 1997;21(1):11-6.

32. Cuello S, Noda J, Perera CL, Alfonso P. Diagnóstico de bronquitis infecciosa aviar por diferentes técnicas serológicas. Revista Cubana Cienc Avic 2000; 24(2):104-9.

33. Cuello S, Noda J, Alfonso P, Perera CL. Bronquitis infecciosa aviar. Cinética de anticuerpos posvacunales en reproductoras y su transferencia a la progenie. Rev Salud Anim 2004;26(1):42-7.

34. Noda J, Cuello S, Alfonso P, Casañas J. Bronquitis infecciosa aviar: obtención de antígeno y detección de anticuerpos por inhibición de la hemoaglutinación. Rev Cubana Cienc Avic 2002;26(2):89-95.

35. Parra T. La calidad de la materia prima y el alimento terminado. Rev Acontecer Avícola 1999;7(50):26-8.

36. Idoate A. Micoplasmosis. Enfermedad respiratoria crónica. Julio 2000 [En línea.] Consultado: 5 de abril de 2009. Disponi-

ble en: [http://www.oie.int/esp/publicat/rt/e\\_rt15\\_4.htm](http://www.oie.int/esp/publicat/rt/e_rt15_4.htm)

37. Sánchez A, Luzbel Y, Lamazares MC, López W, Soca M, Pérez E. Uso del programa computarizado EPIZOOIND en el análisis de un brote de coriza infecciosa. En: Memorias del Congreso de Veterinaria. Universidad Agraria de La Habana, Facultad de Medicina Veterinaria. 2007. p. 27-32.

38. Valencia B. Bronquitis infecciosa: Soluciones prácticas. En: Memorias del Congreso Nacional de Avicultura 2007. [En línea.] Consultado: 6 de febrero de 2010. Disponible en: <http://www.amevea-ecuador.org/memorias.htm>

39. Cerdá R, Uriarte J, Origlia J, Petruccelli M. *Ornithobacterium rhinotracheale*: Su importancia como patógeno respiratorio en pollos y su asociación con *Mycoplasma synoviae*. [En línea.] Consultado: 16 de febrero de 2010. Disponible en: [http://www.vetanco.com.ar/pdf/ornithobacterium\\_rhinotracheale\\_capia.pdf](http://www.vetanco.com.ar/pdf/ornithobacterium_rhinotracheale_capia.pdf)

40. Vandamme P, Sergers M, Vancaneyt K, Van Hover R, Mutters J. Description of *Ornithobacterium rhinotracheale* gen. nov. isolated from the avian respiratory tract. Int J Syst Bacteriol 1994;44:24-37.

41. Van Veen L. Conoce usted el real impacto de la infección por *Ornithobacterium rhinotracheale* en las aves. Infvet. 2003. Mayo-junio: 1-5.

42. Fernández A. La bioseguridad y su importancia económica en los países de América Latina. Ediciones Midia S.A. de C.V. México. 1997; p. 63-9.

43. Kleven SH. Complejo respiratorio de las aves. Cuarto curso de actualización AVIMEX. Department of avian medicine, Universidad de Georgia, Atenas, Estados Unidos; 1999.

44. Cavanagh D. Survey acute respiratory syndrome vaccine development: Experience of vaccination. Avian Pathol 2003;32(6):567-82.

45. Acevedo AM, Burgher Y, Colas M, Relova D, Correa A, Bacallao E, et al. Detección en muestra clínica e identificación de aislados del virus de la bronquitis infecciosa aviar por un ensayo de reverso transcripción acoplado a reacción en cadena de la polimerasa. Rev Salud Anim. [En prensa, 2010.]

46. Shane M. Las enfermedades respiratorias: retos actuales en el mundo. 2005. [En línea.] Consultado: 16 de febrero de 2010. Disponible en: <http://labs.intelart.com.mx/mj/avimex/cursos/x1-10.doc>

47. Viamontes O, Cánovas A, Guilarte O, Acosta I. Evaluación serológica de reemplazos de aves de reproductores que recibieron la vacuna tetravalente oleosa contra las enfermedades Newcastle, bronquitis y Gumboro. Rev Cubana Cienc Avic 1991;3:228-31.

Recibido en marzo de 2010. Aprobado en julio de 2010.