PASADO, PRESENTE Y FUTURO DE MYCOPLASMAS AVIARES EN AVES COMERCIALES

A. Feberwee & W.J.M. Landman

XXTH World Vet. Poultry Assn. Congress. Edimburgo, Sept. 2017

Los micoplasmas aviares, especialmente el *Mycoplasma gallisepticum* – *MG* - y *M. meleagridis* – *MM* -, seguidos del *M. iowae* – *MI* - y el *MS* – *MS*-, figuran entre los organismos patógenos más importantes para las aves domésticas comerciales desde un punto de vista clínico y económico.

En el presente trabajo se ofrece una visión general de dónde estamos viniendo, donde estamos y probablemente donde estaremos en cuanto a las micoplasmosis en pollos y los pavos.

Pasado

La primera descripción de las micoplasmas aviar fue realizada por Nelson – 1936 -, que aisló cuerpos cocobaciliformes - llamados X-bacillus - de pollos con un coriza de inicio lento. Estos microorganismos fueron posteriormente identificados como organismos similares a los encontrados en casos de pleuroneumonía en el ganado y por lo tanto llamados pleuroneumonía. La rinitis de aparición lenta se redefinió posteriormente – 1952 - como enfermedad respiratoria crónica (*) en pollos y sinusitis infecciosa en pavos, y el agente etiológico identificado como MG en 1960.

Posteriormente, poco a poco se identificaron otros *Mycoplasma* spp. afectando a las aves domésticas. Aunque sobre la sinovitis infecciosa ya se había informado por Olson y col. en 1954, la identificación de *Mycoplasma spp.* asociado con el *MS* no se hizo hasta 1964. En 1965, un microorganismo de tipo pleuroneumonia distinto del *MS*, aislado siete años antes de pavos, fue clasificado como *MM*. Otro importante micoplasma identificado como *M. iowae* fue aislado de pavos y pollos con aerosaculitis, lesiones vertebrales y anomalías embrionarias en 1964.

En los años siguientes a la identificación de los diversos *Mycoplasma* spp. relevantes para pollos y pavos, se realizaron muchos estudios para desentrañar su transmisión y patogénesis. Además, la terapia y la prevención se convirtieron en un importante foco de investigación. El descubrimiento de que los micoplasmas pueden actuar sinérgicamente con otros patógenos del tracto respiratorio tales como *E. coli*, el virus de la bronquitis infecciosa y el virus de la enfermedad de Newcastle, tanto el virus de campo como el vacunal, fueron un importante hito para entender la enfermedad del micoplasma. Otra observación significativa a este respecto fue que la gravedad de los signos clínicos puede variar mucho entre las infecciones con diferentes cepas de micoplasma y que la severidad de la enfermedad puede aumentar debido a la inmunosupresión y/o unas condiciones ambientales adversas en el gallinero

Los primeros pasos en la comprensión de la transmisión de micoplasmas aviares se dieron en los años 50. Con la identificación de la transmisión por contacto a través del aire y por el huevo - y para el *MM* también a través del semen- fue posible desarrollar programas eficaces de control y erradicación. Estos programas se basaban y aún se basan en una seromonitorización regular para la identificación temprana de las manadas infectados y unas medidas de control tales como la mejora de la bioseguridad para prevenir la transmisión horizontal así como el sacrificio de los reproductores para evitar la transmisión por el huevo. Sin embargo, en los primeros días del control del micoplasma, la eliminación de las manadas reproductoras infectadas fue problemática debido a la elevada prevalencia de *MG* y *MM*.

La reducción de la transmisión a través del huevo se consiguió mediante:

1. La incubación de pequeños grupos de unos pocos centenares de pollitos y la separación de los infectados de los no infectados.
2. El tratamiento antibiótico de las manadas reproductoras a intervalos mensuales.

(*) N. de la R.: En España, a partir de los primeros casos de la enfermedad respiratoria crónica, a fines de los años 50 del siglo pasado, por "contagio" con la terminología norteamericana, se comenzó a denominar CRD al proceso, no teniendo demasiado éxito el acrónimo de ERC, más correcto.

3. La inmersión de los huevos en soluciones antibióticas utilizando un gradiente de temperatura, con huevos para incubar precalentados en una solución antibiótica fría o bajo presión negativa. La inyección de huevos para incubar con una solución antibiótica, al contrario que la inmersión, garantiza una dosis de antibióticos más constante por huevo y generalmente sólo se realiza en los de abuelos infectados, ya que este procedimiento es más costoso.

Aunque pronto se hizo evidente que los signos de la enfermedad podían ser mitigados mediante tratamientos con antibióticos, ello no podía prevenir la aparición de portadores de por vida. Dado que la eficacia de un tratamiento antibiótico depende de la sensibilidad de las cepas de micoplasma, la determinación de la mínima concentración inhibitoria – MIC -, tal como se realizó por primera vez en 1965 para *MS*, es de gran valor.

El control de las infecciones de *MG* en las aves domésticas comerciales mediante inmunización se exploró a partir de los años 70. Por el contrario, para el *MS* esto comenzó mucho más tarde.

Se desarrollaron más o menos simultáneamente pruebas serológicas tales como la aglutinación rápida con placa –RPA-, la de aglutinación con tubo y la de inhibición de la hemaglutinación, tanto para fines de diagnóstico como de seromonitoreo. Posteriormente se añadió el ensayo de inmunoabsorción con enzima, o ELISA. El cultivo de micoplasmas para el diagnóstico, necesario para obtener aislamientos, resultó ser costoso, difícil y lento debido a sus complejos requerimientos de nutrientes y lenta replicación. Nocard y Roux fueron los primeros en evidenciar que los nutrientes complejos son necesarios para la multiplicación de micoplasmas, ya que sólo podrían propagarlos en bolsas de colodión insertadas en la cavidad peritoneal de conejos y no en medios para bacteriología. El diagnóstico de las infecciones por micoplasma se mejoró con el desarrollo de las reacciones en cadena de la polimerasa a finales de los años 80 ya que los procedimientos serológicos a menudo se ven obstaculizados por reacciones cruzadas entre especies, mientras que el cultivo es engorroso y costoso. Posteriormente se introdujeron las técnicas de impresión digital de bandas - para tipificación molecular -, como el análisis de endonucleasas de restricción y la amplificación aleatoria de ADN polimórfico con el objetivo de diferenciar las cepas para comprender mejor la epidemiología de micoplasmas.

Presente (años 90 hasta ahora)

Actualmente, unos 25 *Mycoplasma spp.* han sido identificados en las aves, de los cuales alrededor de 14 en pollos y pavos. Entre estos últimos, *MG*, *MM*, *MI* y *MS* se consideran los más importantes. La aparición en todo el mundo hacia finales del siglo pasado de cepas de *MS* que causan anomalías en el ápice de la cáscara y la caída de la producción de huevos y la emergencia en algunos países de cepas artropáticas cambiaron la percepción de que esta especie de micoplasma es relativamente inocua. Esto fue especialmente cierto en países con programas eficaces de control y erradicación de *MS*, donde el *MS* parece estar superando al *MS*. Una nueva propagación de *M. imitans*, descubierta en 1993, que podría haber comprometido la seromonitorización de *MG* por similitud fenotípica no se ha producido hasta la fecha, mientras que los brotes de *MI* sólo se citan esporádicamente en aves comerciales.

La comprensión de la supervivencia de micoplasmas en el medio ambiente ha contribuido a medidas de bioseguridad más eficaces. Por ejemplo, aunque en general la supervivencia del *MG* fuera del huésped en diversos materiales generalmente es relativamente corta, de 1 a 4 días, el organismo puede sobrevivir durante meses en restos de huevo. Por lo tanto, la eliminación de restos de huevo durante la limpieza y desinfección de los gallineros y los contenedores de huevos es crucial para prevenir la propagación horizontal de micoplasmas. Más recientemente, se ha descrito la formación de biofilm por *MG y se* ha demostrado que las cepas productoras de biofilm eran más resistentes a los antibióticos y al detergente, lo que sugiere que tienen una ventaja de supervivencia.

> La comprensión de la supervivencia de micoplasmas en el medio ambiente ha contribuido a medidas de bioseguridad más eficaces

También se ha indicado que el *MG* es un patógeno significativo en aves silvestres en Norteamérica, principalmente pinzones, a partir de 1994. La transmisión de un aislado tipo pinzón a aves domésticas comerciales – pavos - sólo se ha citado una vez. Los resultados de los estudios de transmisión experimental con un aislado de *MG* de pinzón sugieren que las medidas mínimas de bioseguridad para restringir el contacto directo entre estos y las aves domésticas reducirán significativamente su transmisión entre estas especies. Además, los genotipos de pinzones de *MG* parecen diferir de los de las aves domésticas. Esto, junto con el hecho de que las infecciones por *MG* no se detectan con mayor frecuencia en gallinas camperas en comparación con las aves en confinamiento interiores, sugiere que la transmisión de micoplasmas de aves silvestres a aves domésticas parece de importancia limitada.

En la actualidad se usan varias pruebas comerciales de RPA y ELISA adicionales para el diagnóstico y seromonitorización de las infecciones por *MG*, MS y *MM*. Como la respuesta serológica inducida por *MI* es débil, la serología no es fiable para este micoplasma.

Gradualmente, el engorroso y costoso cultivo de micoplasmas, que sólo se realiza en algunos laboratorios especializados, ha sido reemplazado por varias técnicas de *PCR*, convencionales y en tiempo real que permiten la detección del antígeno de micoplasma con mayor sensibilidad y mucho antes que la serología – unas 6 a 8 semanas -. y el cultivo, hasta 4 semanas.

Ante la necesidad de distinguir las cepas de vacunas vivas de los micoplasmas de campo, con el fin de diferenciar las aves vacunadas de las infectadas – DIVA -, recientemente se han desarrollado *PCR* en base a una secuenciación de nueva generación. Este último método también ha contribuido al desarrollo de nuevas técnicas de tipificación molecular para la epidemiología

Boehringer Ingelheim

VISITA **VAXXITEK.COM**

PROTECCIÓN GLOBAL.
SOLUCIONES INDIVIDUALES.

VAXXITEK®HVT+IBD Suspensión y disolvente para suspensión inyectable. COMPOSICIÓN: Cada dosis de vacuna contiene: Virus vivo recombinante vHVT013-69, como mínimo 3,6 a 5,0 log10 UFP, Excipiente c.s.p. 1 dosis, Disolvente c.s.p. 1 dosis. INDICACIONES: Inmunización activa de pollitos para prevenir la mortalidad y reducir los signos clínicos y las lesiones debidas a la bursitis infecciosa aviar. Inicio de la inmunidad: a partir de los 14 días, duración de la inmunidad: al menos hasta la 9ª semana. Para reducir la mortalidad, los signos clínicos y las lesiones debidas a la enfermedad de Marek. Inicio de la inmunidad: a partir de los 4 días. Una única vacunación confiere protección durante el periodo de riesgo. CONTRAINDICACIONES: No usar en aves durante la puesta o aves reproductoras. REACCIONES ADVERSAS: Ninguna conocida. ESPECIES DE DESTINO: Pollitos de 1 día y huevos embrionados de 18 días. POSOLOGÍA: La vacuna debe ser administrada por vía subcutánea o in ovo. Para la administración in ovo, puede utilizarse una máquina de inyección de huevos automatizada. El dispositivo debe demostrar que libera de forma segura y efectiva la dosis apropiada. Deben seguirse estrictamente las instrucciones para la utilización de este aparato. Vía subcutánea: una dosis única de 0,2 ml por pollito de 1 día. In ovo: una dosis única de 0,05 ml por huevo embrionado de 18 días. INSTRUCCIONES PARA UNA CORRECTA ADMINISTRACIÓN: Usar guantes y gafas protectoras durante las operaciones de descongelado y apertura de las ampollas. Sacar del contenedor de nitrógeno líquido solamente aquellas ampollas que se vayan a utilizar inmediatamente. Descongelar rápidamente el contenido de las ampollas por agitación en agua a 25°C 30°C. Pasar rápidamente a la etapa siguiente. Tan pronto como estén descongeladas, abrir las ampollas manteniéndolas a una distancia correspondiente a la longitud del brazo en el momento de su apertura, con el fin de evitar cualquier riesgo de herida en caso de que se rompiera una ampolla de forma brusca. Una vez abierta la ampolla, extraer su contenido con una jeringa estéril de 5 ml. Tranferir la suspensión al disolvente (no utilizar el producto si presenta un aspecto turbio). Extraer 2 ml de disolvente con la jeringa. Enjuagar la ampolla con estos 2 ml y trasferir el líquido de enjuague al disolvente. Repetir la operación 1 ó 2 veces. Repetir las operaciones de descongelación, apertura, transferencia y enjuagado para el número apropiado de ampollas que vayan a ser reconstituídas en el disolvente: o bien 1 ampolla de 1000 dosis de vacuna para 200 ml de disolvente (o 1 ampolla de 2000 dosis de vacuna para 400 ml de disolvente) para administración subcutánea, o 4 ampollas de 1000 dosis de vacuna para 200 ml de disolvente (o 4 ampollas de 2000 dosis de vacuna para 400 ml de disolvente) para administración in ovo. La vacuna disuelta, preparada como se ha descrito, se homogeniza por agitación suave y estará lista para su uso, debiendo ser utilizada inmediatamente (la totalidad de la vacuna disuelta debe ser utilizada en menos de una hora). Por esto, la suspensión de vacuna debe prepararse a medida que se vaya utilizando. TIEMPO DE ESPERA: Cero días. PRECAUCIONES ESPECIALES DE CONSERVACIÓN: Conservar y transportar congelado en nitrogeno liquido (- 196ºC). No usar después de la fecha de caducidad que figura en la ampolla. Período de validez después de reconstitución de la vacuna según las instrucciones: máximo 2 horas a temperatura inferior a 25°C. ADVERTENCIAS ESPECIALES: Vacunar solamente aves sanas. Deben adoptarse las medidas habituales de asepsia durante todas las etapas de la vacunación. Existe información sobre la seguridad y la eficacia que demuestra que esta vacuna se puede administrar en uso conjunto con las vacunas atenuadas de Merial de la cepa Rispens contra la enfermedad de Marek. Existe información sobre la seguridad y la eficacia que demuestra que esta vacuna se puede administrar en el mismo día pero no en uso conjunto con las vacunas atenuadas de Merial contra la enfermedad de Newcastle y la Bronquitis infecciosa. No existe información disponible sobre la seguridad y la eficacia del uso de esta vacuna con cualquier otro medicamento veterinario, excepto los medicamentos mencionados anteriormente. Para la inyección, usar únicamente material estéril sin trazas de antisépticos ni de desinfectantes. PRESENTACIÓN: Ampollas de vidrio con 1000 dosis de vacuna, en soporte de 5 ampollas y con 2000 dosis de vacuna, en soporte de 4 ampollas, sumergidos en contenedores de nitrógeno líquido. Disolventes: Bolsas de cloruro de polivinilo con 200, 400 y 1200 ml de disolvente. Medicamento sujeto a prescripción veterinaria. REGISTRO nº EU/2/02/032/001 Merial Laboratories, 29 avenue Tony Garnier 69007 Lyon (Francia).

VAXXITEK® HVT+IBD

con un poder discriminativo creciente, tales como la tipificación de secuencia multilocus para *MS*, *MG* y *MI*.

El empleo curativo y preventivo de antibióticos se realiza habitualmente cuando otras medidas de control fallan o son económicamente insostenibles con el fin de reducir la enfermedad clínica y las pérdidas económicas posteriores. Los tratamientos preventivos repetidos a intervalos de cuatro a cinco semanas se aplican ampliamente en países con alta prevalencia de *MG* para prevenir el *CRD* y una disminución de la producción de huevos en ponedoras. Con el fin de optimizar los tratamientos con antibióticos, es fundamental disponer de información actualizada sobre los perfiles de susceptibilidad a los antibióticos de los aislamientos de interés.

La vacunación contra *MG* se ha convertido en una práctica corriente en muchas partes del mundo, especialmente en áreas con un sector avícola no desarrollad, pero también en ciertas categorías de aves domésticas - por ejemplo, granjas de puesta mustiedad - en el mundo occidental. Las vacunas vivas e inactivadas de *MG* pueden prevenir o reducir los signos clínicos en las aves. Experimentalmente se ha demostrado que una bacterina inactivada por *MG* puede proteger a los pavos contra los signos de enfermedad. Según Lin & Kleven - 1982 - la vacunación de pavos con vacunas vivas de *MG* no es una práctica común, ya que las cepas vacunales son incapaces de colonizar estas aves o son demasiado virulentas - cepa F -. Sin embargo, esto puede cambiar pronto ya que recientemente se ha utilizado con éxito la cepa genéticamente modificada ts -11 - GapA + - en los pavos. Una vacuna de vectores de la viruela aviar que expresa antígenos de *MG* es una adición reciente a este grupo vacunal.

> La vacunación contra MS gira principalmente alrededor de dos vacunas vivas: MS-H y la MS1, recientemente aparecida

Nuestros estudios experimentales – 2006 - han demostrado que a pesar de que las vacunas de *MS* no pueden prevenir una infección con *MG* en el campo son capaces de reducir su difusión y transmisión horizontal en aves domésticas pollos. Además, se ha demostrado que las vacunas vivas desplazan al campo *MS* en granjas infectadas de varias edades.

La vacunación contra MS gira principalmente alrededor de dos vacunas vivas: la *MS-H* y la recientemente aparecida, *MS1*. Al igual que con las vacunas contra el *MG*, hemos demostrado que la *MS-H*, aunque no pudo evitar la colonización con una cepa de campo, ha sido capaz de reducir significativamente su difusión y transmisión horizontal. También se ha demostrado que la vacuna *MS-H* protege a los pavos contra lesiones traqueales causadas por una cepa de *MS* de campo.

También pueden ocurrir unos efectos no deseados de la vacunación, como se demostró recientemente en un trabajo que documenta la transmisión transovariana de una cepa vacunal de tipo ts-11. Esto se explicó por la aparición de la reversión a la virulencia, que puede minimizarse mediante una administración adecuada de la vacuna para evitar la propagación de la vacuna viva de ave a ave.

Las enormes inversiones realizadas en la investigación de las micoplasmas aviares han dado sus frutos por unos mejores diagnósticos y estrategias de control durante el último medio siglo. En países con programas bien organizados de control y erradicación, la prevalencia de importantes micoplasmas aviares como *MG* y *MM* ha disminuido drásticamente, lo que hace que la producción avícola sea más competitiva y eficiente. Sin embargo, el *MG*, cuya importancia ya no es motivo de debate, no está todavía bajo control, excepto en los reproductores primarios.

El futuro

A pesar de los muchos progresos realizados en el control de micoplasmas en muchos países, todavía quedan retos suficientes para el futuro. Existe una necesidad urgente de reducir aún más la prevalencia de *MG* en los países en desarrollo, lo que debería contribuir a aumentar la rentabilidad de la producción avícola y reducir el uso de antibióticos. Otra tarea ardua es disminuir en todo el mundo la prevalencia de *MS*, que beneficiaría enormemente a la avicultura.

Se espera progresar en los métodos de diagnóstico con un cambio adicional de la serología hacia pruebas basadas en moléculas, siempre que los precios de los PCR puedan competir con aquella. Esto permitirá una detección temprana y más precisa de las infecciones por micoplasma. Probablemente, las pruebas de punto de atención – también conocidas como pruebas de cabecera, de cercanía al paciente, prueba rápida, etc. - serán de interés y ayudarán a la rápida detección *in situ* de micoplasmosis, especialmente en áreas donde los servicios de laboratorios avícolas no son muy accesibles. Además, el uso de métodos de muestreo menos incómodos y más amigables con los animales - por ejemplo, hisopos de hendidura coanal - probablemente reemplazarán al método de muestreo de sangre actualmente ampliamente utilizado, tanto para análisis serológicos como para los basados en análisis moleculares. A medida que la secuenciación y secuenciación del genoma en general sea más accesible y se construyan bases de datos más grandes, se pueden desarrollar mejores herramientas para realizar epidemiología molecular, identificar factores de virulencia, hacer nuevas o mejorar las vacunas existentes, etc.

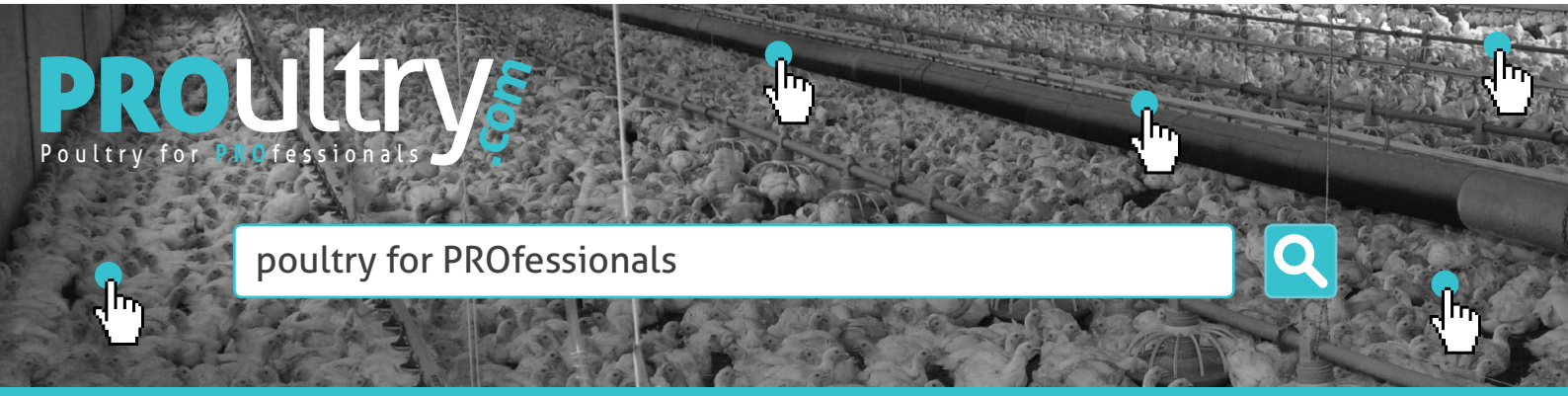
Aunque en el pasado muchas de las cuestiones pertinentes a la patogénesis, la transmisión y la inmunología de los micoplasmas aviares se han resuelto principalmente en estudios de laboratorio, esto seguirá siendo necesario en el futuro a fin de abordar la patogénesis de nuevas especies/cepas emergentes de micoplasma, para estudiar la eficacia de nuevas o mejoradas vacunas, etc.

A medida que la presión aumenta para disminuir el uso irrestricto de antibióticos, el enfoque en otras estrategias de control – mejor bioseguridad y vacunación - y la prudente administración de antibióticos se hará más importante. El uso juicioso de antibióticos requiere el aislamiento regular de micoplasmas y la evaluación de sus MICs. Por lo tanto, en el futuro el cultivo de micoplasmas no quedará obsoleto. Además, a veces es indispensable para fines de diagnóstico cuando otros resultados de las pruebas no son concluyentes, así como para la detección de nuevas o variantes especies de micoplasma.

El control de las infecciones por micoplasma en las aves domésticas depende en gran medida de la bioseguridad estricta y esto tampoco cambiará en el futuro. Teniendo en cuenta una avicultura de crecimiento rápido en todo el mundo, que a menudo todavía abarca sistemas de multiedad - especialmente en granjas de puesta y de pavos - y áreas de alta densidad avícola, será un trabajo muy difícil "hablar suavemente" para controlar más las infecciones por micoplasma. Sin embargo, incluso en estos casos se pueden lograr avances en el control de micoplasmas si se mejora la bioseguridad para evitar la introducción de nuevas cepas en combinación con un programa de vacunación. Como se ha mencionado, las vacunas MG y *MS* pueden reducir la transmisión horizontal de las cepas de campo y, por lo tanto, contribuir a controlar estos micoplasmas en granjas multiedad y en áreas de alta densidad avícola en las que las infecciones se perpetúan desde las aves mayores a las pollitas de reemplazo, una y otra vez. Con el fin de medir el progreso en el control de micoplasmas cada vez que se utiliza la vacunación, el seguimiento de las manadas con pruebas DIVA es fundamental ya que, a pesar de los efectos beneficiosos de la misma, no protegen contra infecciones de campo.

> Se pueden lograr avances en el control de micoplasmas si se mejora la bioseguridad para evitar la introducción de nuevas cepas

La enorme importancia de los micoplasmas en avicultura ha justificado justificadamente grandes inversiones en investigación, prevención y control de micoplasmas, que han dado sus frutos. También serán necesarias inversiones en el futuro, ya que los retos para mantener un sector avícola rentable y libre de micoplasma no disminuirán, dado el enorme crecimiento de la avicultura, necesario para alimentar a la creciente población humana.•



TODO LO QUE NECESITAS EN AVICULTURA EN PROultry.com
Poultry for PROfessionals

¡Te acercamos a lo que buscas!
Información actualizada, organizada y accesible