

# MICOPLASMAS AVIARES: SITUACION EPIDEMIOLOGICA ACTUAL, BIOSEGURIDAD Y DIAGNOSTICO

Janet Bradbury

Departement of Veterinary Pathology

University of Liverpool

UK

## Los micoplasmas patógenos aviaries

*Mycoplasma gallisepticum* (Mg) constituye la infección por micoplasmas más importante en pollos y pavos, causando principalmente enfermedades respiratorias, depreciación de las canales y pérdidas de producción de carne y huevos. El efecto económico es exacerbado por otros patógenos y por factores estresantes. *Mycoplasma synoviae* (Ms) también afecta a los pollos y pavos, pero su papel como patógeno primario es menos obvio. Ms es a menudo especialmente prevalente en recría de ponedoras. *Mycoplasma meleagridis*, que afecta sólo a pavos y *Mycoplasma iowae*, que puede matar a embriones de pavo, son actualmente mucho menos comunes que Mg y Ms.

Esta presentación se concentrara en Mg y Ms y examinará porque siguen siendo un problema a pesar de nuestros múltiples intentos de controlarlos.

En teoría la difusión de micoplasmas entre los lotes debería ser relativamente fácil de prevenir mediante estrictas medidas de bioseguridad porque la transmisión necesita un estrecho contacto. Además los micoplasmas no sobreviven bien en el ambiente y pueden ser fácilmente destruidos por desinfectantes habituales. Los lotes infectados pueden ser tratados con antibióticos, no sólo para aliviar la enfermedad, sino también para reducir el número de micoplasmas que es excretado por las aves.

A pesar de todas estas consideraciones, costosas infecciones por Mg y Ms se siguen produciendo en valiosos lotes de reproductoras y aves comerciales. Para examinar las posibles razones es útil tener en cuenta la naturaleza de estos organismos y su epidemiología.

## Naturaleza de los organismos

Los micoplasmas son bacterias que han perdido su pared celular protectora y muchos de sus genes no esenciales durante la evolución. El genoma de los micoplasmas es el menor de todos los organismos vivos conocidos y, como consecuencia, los micoplasmas son muy dependientes de su hospedador para cubrir sus exigentes necesidades nutricionales. A pesar de su pequeño genoma, tanto Mg como Ms son capaces de producir variaciones significativas de sus importantes antígenos de superficie, y Mg es también capaz de invadir células. Estas propiedades son capaces de ayudar al micoplasma a evitar los mecanismos de defensa del hospedador y pueden explicar porque pueden persistir durante largos períodos superando una aparentemente buena respuesta inmune. La localización intracelular puede también explicar porque los tratamientos con antibióticos no eliminan necesariamente la infección.

## **Epidemiología**

Los micoplasmas y su modo de dispersión han sido estudiados durante más de 50 años, pero hay todavía muchos aspectos de su epidemiología que no están totalmente comprendidos.

Sin embargo, los últimos años la ciencia de la epidemiología se ha transformado por el uso de poderosos programas informáticos para el análisis de datos y por el desarrollo de las técnicas moleculares.

Debido a su limitado material genético y su frágil naturaleza, los micoplasmas patógenos se han asegurado de su propia supervivencia utilizando diferentes métodos de difusión. De manera que pueden transmitirse de padres a la descendencia a través del huevo incubable y de ave a ave por contacto directo o indirecto, sin embargo las rutas exactas de la difusión indirecta no están bien documentadas.

### *Transmisión a través del huevo incubable*

La transmisión por el huevo es una ruta importante de difusión a pesar de que la temprana erradicación de micoplasmas patógenos desde los lotes de reproductores significa que la infección en cada lote es escasa. La infección sucede de vez en cuando a nivel de reproductoras comerciales, más frecuentemente con Ms que con Mg, con posibilidades de difusión vertical salvo que se intervenga.

Todavía hay una laguna informativa sobre la transmisión al huevo de micoplasmas, sin embargo para Mg y Ms es probablemente la vía más frecuente de infección temprana. La dinámica de la transmisión al huevo se puede ver influida por la cepa particular del organismo y por lo tanto el desarrollo de métodos moleculares para la tipificación de cepas podría facilitar la investigación sobre esta posibilidad con más detalles.

### *Transmisión en la incubación*

No parece que haya nueva información sobre la difusión de micoplasmas en incubadoras a pesar de que se asume que puede ocurrir si aves susceptibles e infectadas son incubadas en el mismo día o si los procedimientos de limpieza y desinfección entre incubaciones no son rigurosos. Se sabe que los organismos sobreviven bien en la yema del huevo. El manejo de las aves, por ejemplo para sexar o vacunar, puede también transmitir infecciones.

### *Transmisión en un lote*

Una vez que un lote se ha infectado de micoplasma la velocidad de transmisión de ave a ave dependerá de múltiples factores incluidos la densidad de alojamiento y el tipo de construcción.

Se asume que las descargas nasales, estornudos y toses ayudarán a la diseminación del microorganismo de un ave a otra. Las gotitas contaminadas y las partículas de polvo pueden permitir una mayor difusión así como algunas condiciones pueden aumentar la cantidad de infección. Esto incluirá factores como altos niveles de amoníaco ambiental o infecciones respiratorias concurrentes y incluso quizá el estrés asociado con la

producción de huevos o la crianza intensiva. La infección lateral de Ms es sin embargo más rápida que en Mg pero las razones para ello aún no se conocen.

#### *Transmisión entre lotes*

A pesar de la observación de que los micoplasmas no sobreviven bien fuera del hospedador, infecciones inexplicables de micoplasma todavía suceden en lotes libres previamente y aparentemente bajo buenas condiciones de bioseguridad. En muchos casos la fuente de infección no se identifica nunca.

Una posibilidad es que los micoplasmas fueran introducidos en los lotes de aves por otros animales o aves, los cuales podrían actuar como hospedadores intermedio o como vectores mecánicos. Mg ha sido aislado de infecciones naturales en numerosas especies de aves incluidos faisanes, perdices, codornices y gallinas de Guinea y hay informes ocasionales de Mg en otras aves como pavo real, patos, gansos, palomas y loros. En Norteamérica pinzones caseros y jilgueros han sido severamente afectados en algunas áreas por infecciones de Mg, que también se han encontrado en piquigordos y herrerillos.

La tipificación molecular de las cepas fue útil para ilustrar que las cepas de Mg de aves silvestres fueron similares entre sí pero no había relaciones próximas con cepas vacunales o de infecciones de avicultura local (ley et al., 1997).

En el Reino Unido nosotros encontramos por reacción en cadena de la polimerasa (PCR) evidencias de que la infección de Mg en miembros de una familia de cuervos a pesar de que no hay evidencia de transmisión directa ente estas aves silvestres y los lotes avícolas. El uso de PCR para amplificar ADN específico de micoplasma permitirá una búsqueda más amplia de aves silvestres y deseablemente el desarrollo de los métodos de tipificación de cepas ayudará a aclarar el papel de las aves silvestres en la epidemiología.

Ms se ha encontrado en faisanes, perdices, codornices, gallinas de Guinea, patos, gansos y palomas. También se ha aislado de gorriones de granjas infectadas en España (Poveda et al., 1990). En el Reino Unido hemos encontrado muy pequeñas evidencias de Ms in aves domésticas y no hay evidencias en poblaciones de aves silvestres. Los métodos de tipificación molecular de cepas han demostrado que nuestras cepas de Ms de faisanes son diferentes de las cepas comunes avícolas (Hammond et al., 2004). Además, dos estudios epidemiológicos que hemos dirigido en el Reino Unido en reproductoras pesadas, pavos y ponedoras no han evidenciado una asociación entre infecciones por Ms y la proximidad de aves domésticas.

Parece probable que las personas puedan actuar como portadores de micoplasmas aviares sobre ellos mismos o sus ropas. Hemos encontrado que Mg podría sobrevivir en materiales de algodón más de 4 días y una cepa sobrevivió 24 horas en la nariz de una persona (Christensen et al., 1994). Más recientemente los métodos moleculares se han usado para investigar la persistencia de Mg y Ms en el ambiente (Marois et al., 2002<sup>a</sup>; 2002<sup>b</sup>).

En un caso controlado recientemente sobre infecciones por micoplasmas identificamos claramente la introducción de nuevos machos a un lote de reproductoras pesadas (un

práctica conocida como “spiking”) como la causa de numerosas infecciones por Ms (Hazle, 2003). Los factores de riesgo deducidos por análisis estadístico de los datos recogidos en casos y granjas controladas sugieren una asociación positiva entre el riesgo de infección por Ms y el número de granjas de reproductoras pesadas a 2 km. o la presencia de una granja de broilers a 3 km. Es difícil saber hasta donde esto fue debido a fallos de bioseguridad o a la difusión por aerosol entre granjas. El análisis molecular de las cepas de Ms indicó que las mismas cepas (Hammond et al., 2004) tendían a verse involucradas en infecciones dentro de una compañía y debía tenerse el mayor cuidado para evitar el transporte mecánico por el personal y el equipo que se trasladara entre instalaciones. Similares riesgos de bioseguridad se destacaron en otro estudio reciente llevado a cabo en infecciones por Mg en aves de Carolina del Norte (Martínez et al., 2001; ley 2003).

## **Bioseguridad**

Las medidas de bioseguridad son prácticas de manejo diseñadas para reducir el riesgo de entrada de patógenos en granjas y reducir la difusión de patógenos entre granjas. Las medidas introducidas dependerán del conocimiento de la epidemiología de la infección. Para micoplasmas el objetivo es prevenir la difusión de la infección dentro de la cadena de producción manteniendo los plántulos de reproductoras libres de micoplasmas, pero si se infectara un lote es importante prevenir su difusión tanto vertical como horizontalmente, a otras partes de la cadena. La matriz de las compañías de reproductores tienen medidas de bioseguridad extremadamente estrictas y la efectividad de estas medidas en mantener las aves libres de micoplasma ha sido claramente demostrada. Sin embargo medidas tan estrictas no son prácticas ni económicas para reproductoras comerciales o para broilers y ponedoras. Un análisis de coste-beneficio (Gifford 1987) puede utilizarse en diferentes tipos de lotes, para comparar el coste de implantación de varias medidas de bioseguridad con el coste potencial de tener una infección por micoplasma.

La bioseguridad en una granja particular puede ser considerada bajo tres secciones importantes: (i) localización y diseño de la granja; (ii) medidas de bioseguridad día-a-día y (iii) vacío, limpieza y desinfección. Como han confirmado recientemente estudios epidemiológicos, las granjas en regiones de alta densidad de aves tienen un especial riesgo de infección por micoplasmas, que se pueden reciclar de granjas próximas. La infección puede ser originada por los vientos en distancias cortas, pero la gente, los equipos, animales, aves y cualquier movimiento entre granjas puede ser un riesgo real. Por lo tanto son necesarias estrictas medidas de bioseguridad día-a-día en cada granja. Un lote infectado puede representar una gran amenaza para otros lotes al despoblarlo cuando plumas infectadas, polvo, etc. pueden escapar al ambiente o diseminar material infectado desde las aves durante el transporte.

Los principios generales de bioseguridad son bien conocidos pero las modernas técnicas han permitido más sensibilidad en la detección de agentes infecciosos en el ambiente de manera que los “puntos peligrosos” pueden ser identificados. Marois et al. (2002a ; 2002b) proponían que su método para el estudio de persistencia de Mg y Ms en el ambiente pudieran ser utilizados para confirmar la descontaminación de granjas antes de introducir nuevos lotes.

## **Diagnóstico de infecciones por micoplasmas**

El control eficaz de las infecciones por micoplasma requiere un diagnóstico exacto y realista. Los signos clínicos en estas infecciones no sirven para el diagnóstico y los test de laboratorio son esenciales. Algunas infecciones incluso no producen síntomas clínicos y la primera indicación de la infección en lotes de reproductores puede ser la detección de anticuerpos durante los programas de control serológico.

Los controles se realizan normalmente a intervalos regulares sobre 60 aves seleccionadas aleatoriamente de cada nave. Esto da un 95 % de confianza de detectar una infección a un nivel del 5 %. Los test de seroaglutinación rápida utilizando antígenos coloreados es aún la prueba más ampliamente utilizada sin embargo algunas compañías utilizan kits de ELISA comerciales. Es muy importante un buen control de las técnicas para obtener resultados exactos. Reacciones positivas inespecíficas causan la mayor parte de los problemas y pueden iniciar un importante coste en investigación.

Las investigaciones posteriores para confirmar una sospecha de infección pueden incluir aislamiento e identificación del micoplasma causal pero, como este es un procedimiento relativamente lento y especializado, los métodos de PCR se están usando cada vez más. Sin embargo el cultivo es esencial si se quiere comprobar la sensibilidad a antibióticos. El aislamiento de micoplasmas es todavía visto como la “prueba definitiva” porque el PCR puede fácilmente contaminarse y, como es muy sensible, puede fácilmente producir falsos positivos.

Analizar los pollos de un día representa un problema especial y, en recientes discusiones mantenidas por especialistas europeos en micoplasmas en Budapest, estaban de acuerdo en que no hay test serológicos o de PCR validados que puedan usarse en pollitos de un día para detectar infecciones por micoplasmas. Incluso si cada test estuviera disponible, virtualmente de todos los pollitos de un día deberían ser analizados para ser estadísticamente válido (por los diferentes lotes de origen y la escasa prevalencia prevista).

## **Referencias**

- Christensen, N.H., Yavari, C.A., McBain, A.J. and Bradbury, J.M. (1994). Investigations into the survival of *Mycoplasma gallisepticum*, *Mycoplasma synoviae* and *Mycoplasma iowae* on materials found in the poultry house environment. *Avian Pathology*, 23, 127-143.
- Gifford, D.H., Shane, S.M., Hugh-Jones, M. and Weigler, B.J. (1987). Evaluation of biosecurity in broiler breeders. *Avian Diseases*, 31, 339-344.
- Hammond, P.P., Bradbury, J.M., Ramírez, A.S. and Morrow, C.J. (2004) Combined detection and identification of *Mycoplasma synoviae* strains by amplification of a conserved part of the *vlhA* gene. Abstracts of the 15th Congress of the International Organization for Mycoplasmaology, Athens, GA, USA, pp.82-83.

- Hazel, K.A. (2003). The risk factors for mycoplasma infection in UK broiler breeder and turkey breeder flocks. PhD Thesis, University of Liverpool.
- Ley, D.H., Berkhoff, J.E. and Levisohn, S. (1997). Molecular epidemiologic investigations of *Mycoplasma gallisepticum* conjunctivitis in songbirds by random amplified polymorphic DNA analyses. *Emerging Infectious Diseases*, 3, 375-380.
- Ley, D.H. (2003). *Mycoplasma gallisepticum* outbreaks in North Carolina, 1999-2001: lessons learned from the tail end of the epidemic curve. Abstracts of the XIII Congress of the World Veterinary Poultry Association, Denver, USA, p.203.
- Marois, C., Dufour Gesbert, F. and Kempf, I. (2002a). Polymerase chain reaction for detection of *Mycoplasma gallisepticum* in environmental samples. *Avian Pathology*, 31, 163-168.
- Marois, C., Savoye, C., Kobisch, M. and Kempf, I. (2002b). A reverse transcription-PCR assay to detect viable *Mycoplasma synoviae* in poultry environmental samples. *Veterinary Microbiology*, 89, 17-28.
- Martinez, A., Vaillancourt, J.P. and Ley, D.H. (2001) The epidemiology of *Mycoplasma gallisepticum* in North Carolina. Proceedings of the 50th Western Poultry Disease Conference, University of California, Davis, 2001, p110.
- Poveda, J.B., Carranza, J., Miranda, A., Garrido, A., Hermoso, M., Fernandez, A. and Domenech, J. (1990). An epizootiological study of avian mycoplasmas in southern Spain. *Avian Pathology*, 19, 627-633.