

Nota Técnica

Prevalencia y caracterización de aislamientos de *Gallibacterium anatis* en regiones avícolas colombianas durante el periodo 2013-2014

Carlos Viteri A.¹, José Muñoz P.², Luis Duque M.^{3*}

¹Ejercicio particular. ²Universidad de Ciencias Aplicadas y Ambientales (UDCA), Bogotá, Colombia. ³Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria (AGROSAVIA), Villavicencio, Colombia. Correo Electrónico: lgduque@agrosavia.co

RESUMEN

El objetivo de este trabajo fue determinar la prevalencia y caracterizar los aislamientos de *Gallibacterium anatis* en las regiones de Cundinamarca, Valle del Cauca y periferia de Barranquilla, importantes en la producción avícola colombiana. Se analizaron 214 historias clínicas recolectadas en dos laboratorios de diagnóstico, de las cuales 207 correspondían a aves de postura y las restantes fueron de reproductoras. En las zonas de reporte de los casos positivos, las granjas presentaron alta variabilidad en sus controles de bioseguridad. De acuerdo con los resultados obtenidos, el mayor número de casos positivos se concentró entre las semanas 21 a 50 de edad (80 %). De la totalidad de los casos reportados, 184 (85,98 %) fueron positivas al cultivo de senos nasales. La evaluación del número de aislamientos positivos distribuidos de acuerdo a la edad y al tipo de muestra, mostró que entre la semana 11 y 20 de los individuos estudiados, el 40 % de las muestras procesadas del bazo, resultaron positivas.

Palabras clave: gallinas ponedoras, producción de huevos, cría de aves de corral, enfermedades bacterianas.

Prevalence and characterization of *Gallibacterium anatis* isolates in Colombian poultry regions during the 2013-2014 period

ABSTRACT

The objective of this work was to determine the prevalence and characterize the isolates of *Gallibacterium anatis* in the Cundinamarca, Valle del Cauca and periphery of Barranquilla regions, important in colombian poultry production. 214 clinical histories collected in two diagnostic laboratories were analyzed, of which 207 corresponded to laying hens and the rest were breeding hen. In the areas with positive cases, the farms presented high variability in their biosafety controls. According to the results obtained, the greatest number of positive cases was concentrated between 21 to 50 weeks of age (80 %). Of all the cases reported, 184 (85.98 %) were positive for sinus culture. The evaluation of the number of positive isolates distributed according to age and type of sample, showed that between the 11th and 20th week of the studied individuals, 40 % of the processed spleen samples were positive.

Key words: laying hens, egg production, poultry farming, bacterial diseases.

INTRODUCCIÓN

Las patologías respiratorias forman parte de los principales problemas sanitarios y económicos en los sistemas avícolas de cría intensiva. Por otra parte, los rasgos genéticos pueden determinar la susceptibilidad a enfermedades o condicionar la respuesta a diferentes patógenos tales como virus, bacterias entre otros.

Dentro de los agentes bacterianos, *Gallibacterium anatis* (Ga) es considerado un patógeno secundario y su prevalencia es elevada. Este microorganismo da lugar a procesos septicémicos, que puede presentarse como una bacteriemia letal, de alta morbilidad y mortalidad, en la que ocurren afección respiratoria e infección crónica de órganos como hígado, ovario y bazo con una evidente baja de los parámetros zootécnicos (Morales *et al.* 2012).

El *Gallibacterium anatis* se clasifica en el grupo de la familia *Pastereuaceae* (Christensen *et al.* 2003), anteriormente denominado *Pasteurella anatis*, *Pasteurella aviar hemolítica-like*, o *Actinobacillus salpingitidis* (Castillo *et al.* 2014).

Tiene la capacidad de infectar diferentes especies de aves, como pavos, gansos y aves de postura. También se pueden ver afectadas otras especies como el ganado bovino y los porcinos (Singh *et al.* 2016). Aun cuando se dispone de una solución farmacológica para *G. anatis*, con base al uso de antibióticos, existen reportes que indican que puede ocurrir una recurrencia de infección (Bojesen *et al.* 2011, Singh *et al.* 2016).

Este organismo se ha aislado de aves sanas, por lo que se ha sugerido como habitante normal del tracto respiratorio superior (Bojesen *et al.* 2003). Sin embargo, también se ha aislado de aves enfermas con afección ovárica, peritonitis, pericarditis, lo que puede indicar que hay diferencias de patogenicidad de las cepas de *Gallibacterium anatis* y que su ubicación en el tracto respiratorio superior no está relacionada con la capacidad de expresión patogénica, que sí se evidencia cuando hay colonización del organismo en órganos internos como bazo, hígado, ovarios o corazón (Mirle *et al.* 1991).

El potencial infeccioso de este organismo ha sido ampliamente discutido (Osuna *et al.* 2017). De

igual forma, se ha realizado el aislamiento y la caracterización molecular de *Gallibacterium anatis* biovar hemolítica a partir de infecciones respiratorias, salpingitis, peritonitis en muestras de aves de engorde (Elbestawy *et al.* 2018). No obstante, estos autores destacan la necesidad de estudios adicionales para dilucidar el rol de *G. anatis* en los problemas de infección respiratoria y disminución de la producción de huevos en aves.

Dentro de los problemas reportados por la presencia de *G. anatis* en pollos, se observan diversos signos y lesiones, tales como problemas respiratorios, necrosis en el hígado, peritonitis, salpingitis, folículos hemorrágicos y disminución en la producción de huevos (Jhonson *et al.* 2013). En las aves de corral, se han observado infecciones de *G. anatis* asociadas con otros patógenos como *Escherichia coli* (El-Adawy *et al.* 2018).

La infección por *Gallibacterium* es considerada causante de una enfermedad emergente, a esto se les suma su resistencia a diferentes fármacos, lo que ocasiona brotes con una alta mortalidad no solamente en aves de corral sino también en aves de compañía (Singh *et al.* 2016).

Con base a lo anterior y considerando que en Colombia existen 6.299 predios avícolas (3.655 predios de engorde, 162 predios de levante de aves, 2.316 predios de aves de postura), de acuerdo al censo avícola (ICA 2017), es evidente la gran importancia que *G. anatis* puede tener dentro del ámbito productivo y sanitario del país. No obstante, no se conoce la incidencia y prevalencia de este microorganismo en el ámbito avícola colombiano.

Considerando la implicación de *G. anatis* en el desarrollo de distintas enfermedades aviares y la baja disponibilidad de trabajos dedicados a su estudio, el objetivo de este trabajo fue determinar la prevalencia y caracterizar los aislamientos de *G. anatis* en la población de gallinas comerciales y reproductoras durante el periodo marzo 2013 - marzo 2014, en tres zonas avícolas colombianas.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se realizó un estudio de tipo transversal retrospectivo en el que se analizaron 214 historias clínicas de casos positivos para *G. anatis*, durante

el período comprendido entre marzo de 2013 y marzo de 2014, provenientes de dos laboratorios de diagnóstico, ubicados en las zonas sur y central del país. De los 214 casos, 207 correspondieron a ponedoras comerciales y el resto a aves reproductoras.

Para la identificación de *G. anatis* en los aislados bacterianos, los laboratorios utilizaron los siguientes criterios: no móviles de forma redondeada o pleomórfica, colonias β -hemolíticas,

grisáceas, translúcidas no transparentes en su periferia, brillantes y de un diámetro entre 1-2 mm, catalasa y oxidasa negativas.

Para el análisis, los reportes positivos fueron agrupados en 3 regiones geográficas (Departamentos de Cundinamarca, Valle del Cauca y periferia de Barranquilla).

La subdivisión de estas regiones geográficas se presenta en el Cuadro 1 y las figuras 1A, 1B, 1C, y 1D.

Cuadro 1. Regiones geográficas y zonas de origen de los casos positivos

| Zona | Región |
|------|---|
| 1 | Oriente Cundinamarca, incluye Fómeque, Choachi, Ubaque, Sanamé. |
| 2 | Occidente Cundinamarca, comprende Facatativa, La Vega, Supata. |
| 3 | Sur Cundinamarca, incluye Mesitas, La Mesa, Fusagasugá. |
| 4 | Norte Cundinamarca, comprende Zipaquira, Tenza. |
| 5 | Norte Valle del Cauca, incluye Buga, San Pedro, Tulua, Cartago |
| 6 | Sur Valle del Cauca, comprende Jamundi, Caloto |
| 7 | Periféricos, incluye Barranquilla. |

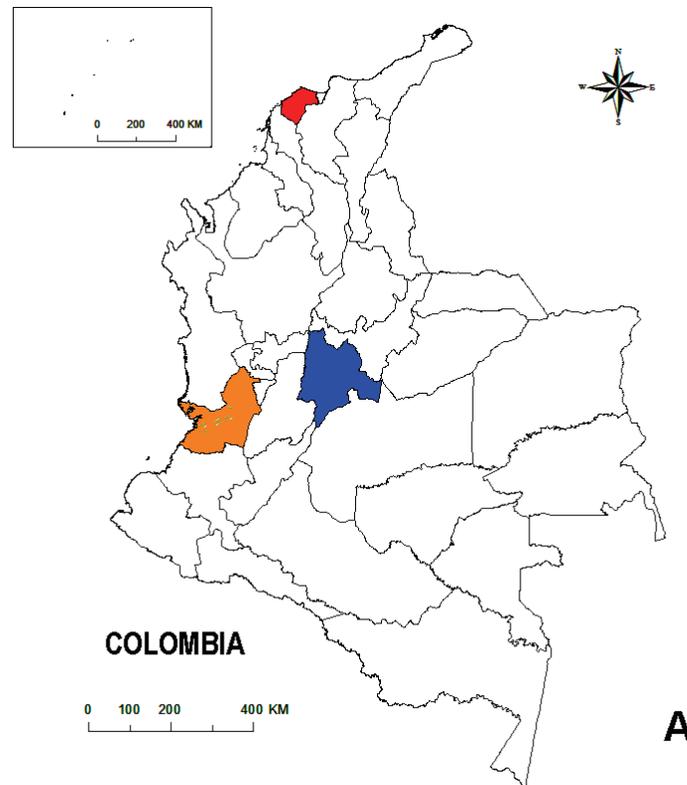


Figura 1A. Agrupación de casos positivos por regiones geográficas.

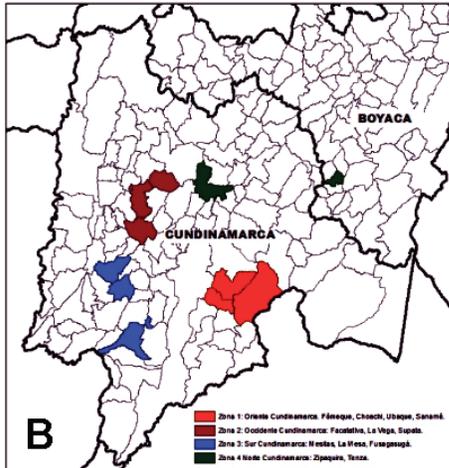


Figura 1B. Zonas 1,2,3,4.

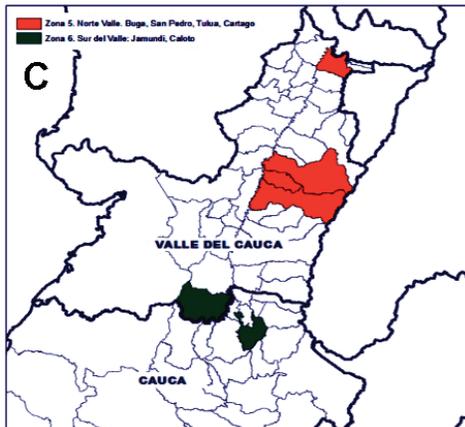


Figura 1C. Zonas 5,6.

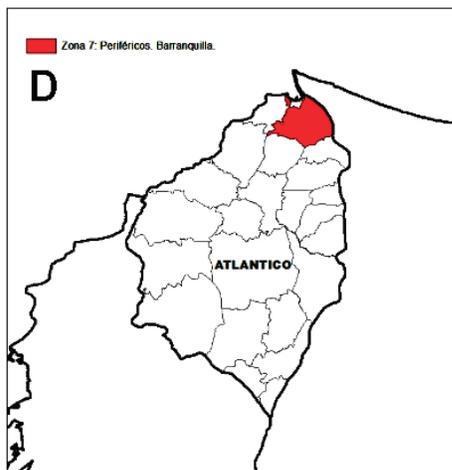


Figura 1D. Zona 7.

Se determinaron las variables: porcentaje de casos positivos en cada zona estudiada, promedio de casos positivos, aislamientos de *Gallibacterium anatis* de acuerdo a los grupos de edad, porcentaje de aislamientos de acuerdo al tipo de muestra para cultivo y número de aislamientos positivos distribuidos de acuerdo a la edad y al tipo de muestra. De igual forma, se evaluó la distribución de los casos positivos en el tiempo.

Para evaluar el número de aislamientos de acuerdo a los grupos de edad, los datos fueron distribuidos en 6 grupos, por etapa productiva y edad, tal como se muestra en el Cuadro 2. Para obtener el porcentaje de aislamientos de acuerdo al tipo de muestra para cultivo, se agruparon los casos positivos detectados en el tracto respiratorio superior y los detectados en otros órganos internos.

Cuadro 2. Distribución de las poblaciones de aves estudiadas por etapa productiva y grupos de edad

| Etapa productiva | Semanas |
|------------------|---------|
| Cría | 0-10 |
| Levante | 11-20 |
| Prod 1 | 21-30 |
| Prod 2 | 31-40 |
| Prod 3 | 41-50 |
| Prod 4 | 51-60 |
| Prod 5 | 61-70 |
| Prod 6 | >71 |
| N.R | N.R |

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Porcentaje de casos positivos por zona geográfica

De los 214 casos positivos para *G. anatis*, el 36,37 % correspondió a la zona 1, mientras que el 28,21 % fue para la zona 5. El 64,15 % de estos reportes positivos, provienen de zonas de alta concentración avícola, con grados de bioseguridad variables (Figura 2).

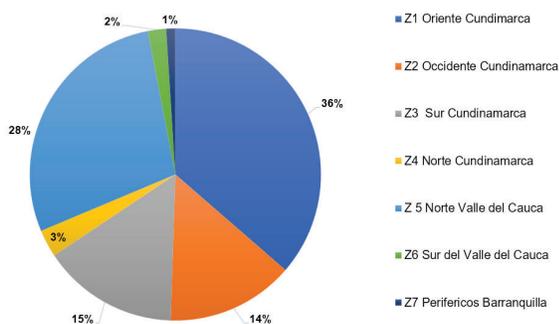


Figura 2. Aislamientos de *Gallibacterium anatis* por zona geográfica

Distribución de los casos positivos en el tiempo

La curva epidémica evidenció que el 54,11 % de los casos reportados se presentaron en el periodo de enero - junio de 2014 (Figura 3). Es probable que un factor disparador haya sido el clima, de acuerdo a las condiciones de explotación de las aves en las zonas de mayor concentración avícola.

Conforme al reporte del clima, en las zonas central y sur de la Regiones Andina y Pacífica, se registraron las mayores precipitaciones en el mes de enero de 2014, comparado a los registros históricos (IDEAM 2014). No obstante, las condiciones de alta temperatura en los meses de febrero y marzo son un factor determinante de estrés que contribuye a la presentación de cualquier entidad infecciosa. La curva epidémica, sugiere un patrón de transmisión de fuente común continua (Navas 2010). El promedio de casos positivos fue de 8,9.

Aislamientos de *Gallibacterium anatis* de acuerdo a los grupos de edad y etapa productiva

Los hallazgos muestran un mayor número de casos positivos en las fases de producción 1, 2 y 3, es decir en el periodo comprendido entre las semanas 21 a 50. La literatura refiere un periodo comprendido entre las semanas 22 a 34 (Campogarrido 2002). Los datos evidenciaron que el 50 % de los casos reportados, se encuentra entre los periodos de producción 1 y 2; de lo anterior se infiere que el estrés de producción promueve una mayor

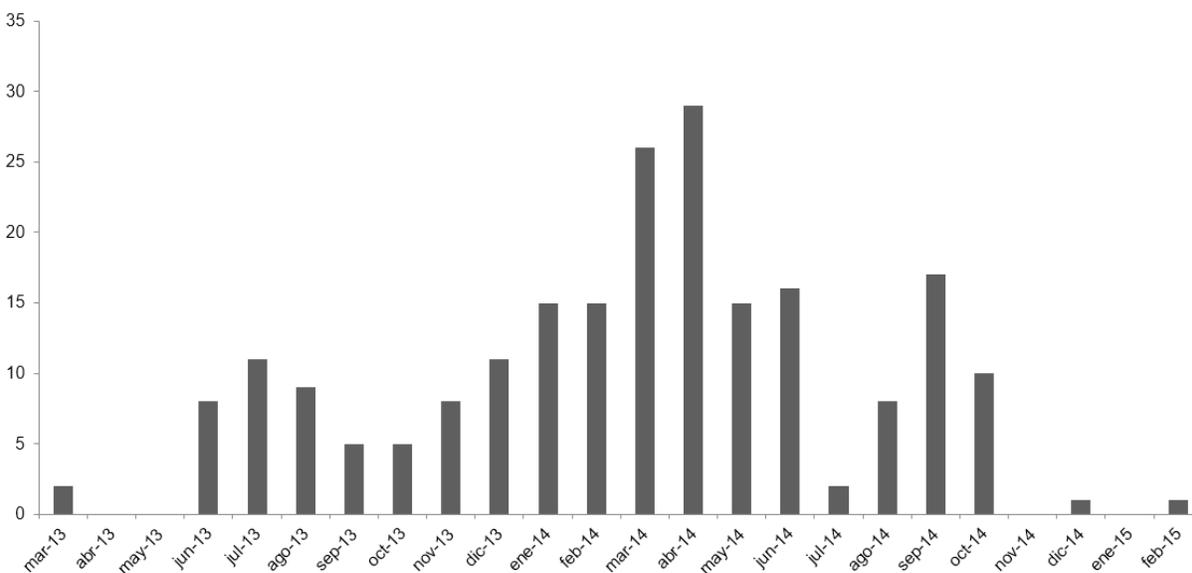


Figura 3. Distribución de los casos positivos de *Gallibacterium anatis* en el tiempo

susceptibilidad para la colonización de organismos de tipo infeccioso (Cuadro 3; Figura 4).

Cuadro 3. Aislamientos de *Gallibacterium anatis* de acuerdo a los grupos de edad

| Etapa productiva | Semanas | A (#) | A (%) |
|------------------|---------|-------|-------|
| Cría | 0-10 | 12 | 6 |
| Levante | 11-20 | 30 | 14 |
| Prod 1 | 21-30 | 48 | 22 |
| Prod 2 | 31-40 | 56 | 26 |
| Prod 3 | 41-50 | 26 | 12 |
| Prod 4 | 51-60 | 16 | 7 |
| Prod 5 | 61-70 | 10 | 5 |
| Prod 6 | >71 | 4 | 2 |
| N.R | N.R | 12 | 6 |

A (#): número de aislamientos. A (%): porcentaje de aislamientos

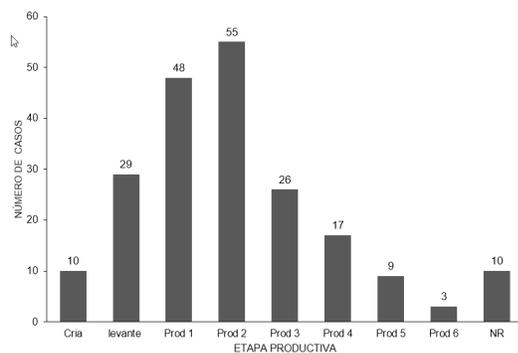


Figura 4. Casos positivos de *Gallibacterium anatis* distribuidos por etapa productiva

De igual forma se observó que el mayor índice de casos positivos fue en ponedoras comerciales ($n = 206$) en comparación con las reproductoras ($n = 8$).

Porcentaje de aislamiento de acuerdo al tipo de muestra para cultivo

De los 214 casos reportados de *G. anatis*, se evidenció que 183 muestras procedían de los senos nasales, 184 muestras provenían de tráquea, 47 a partir de hígado, 37 a partir de ovario y 5 de bazo. Lo anterior indica que el 86 % de los aislamientos

resultó de las vías aéreas superiores y el 42 % de órganos internos (Figura 5).

El alto índice de aislamiento en muestras provenientes de vías aéreas superiores es consistente con la condición de *G. anatis* como habitante normal de la mucosa respiratoria. Por otra parte, el 42 % de los aislamientos positivos obtenidos a partir de muestras provenientes de órganos internos, demuestra la capacidad de colonización y migración del microorganismo hacia hígado, ovario, bazo, pericardio, donde es el principal agente promotor de alteraciones orgánicas y de parámetros productivos.

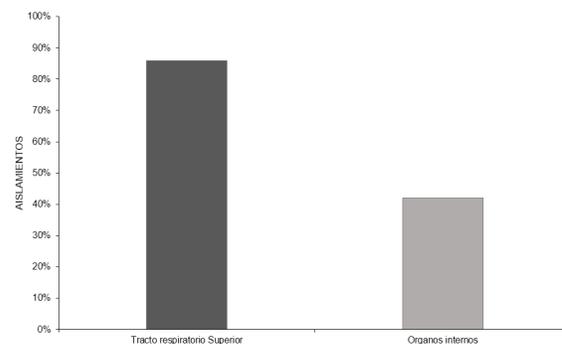


Figura 5. Aislamientos de *Gallibacterium anatis* de acuerdo al tipo de muestra para cultivo

Número de aislamientos positivos distribuidos de acuerdo a la edad y al tipo de muestra

Al evaluar la relación entre la edad, número y lugar de aislamiento de *G. anatis*, se confirmó que durante las fases de vida tempranas de las aves, la casuística de aislamiento puede ser elevada para vías respiratorias altas y puede existir una correlación baja entre su hallazgo en estas vías y en órganos internos como hígado y ovario (Figura 6).

Al establecer la relación entre el sitio de aislamiento y la etapa productiva, se evidenció que de la totalidad de las muestras tomadas de bazo, el 40 % fue positivo para *G. anatis* durante el periodo entre las 11 a 20 semanas, el 20 % en el periodo de las 31 a 40 semanas y un 30 % en una edad no determinada. De todas las muestras tomadas de ovario, el 35 % resultó positivo a *G. anatis* en el periodo de 21 a 30 semanas, mientras que un

30 % en el periodo de 31 a 40 semanas subsecuente. En cuanto a las muestras de hígado, el 25 % de las mismas resultaron positivas en el periodo comprendido entre las 21 a 30 semanas.

Aunque en este estudio, no se determinó la asociación de factores desencadenantes para la presentación de la enfermedad causada por *G. anatis*, queda para el análisis a futuro la posibilidad de que elementos como la temperatura, humedad o cualquier otro factor climático durante ciertas épocas del año, aunado a factores de manejo como la densidad de aves y

bioseguridad, constituyan componentes de riesgo para la aparición de esta enfermedad.

Se requiere un mayor número de estudios de prevalencia de *G. anatis* durante las fases tempranas de cría y levante para determinar si es un organismo facultativo de vías aéreas altas o por el contrario es un agente primario capaz de producir cuadros de enfermedad.

De igual forma, deben establecerse estudios de carácter bioquímico que permitan definir la casuística por serovariedad o biogrupo así como de caracterización molecular a fin de determinar la epizootiología.

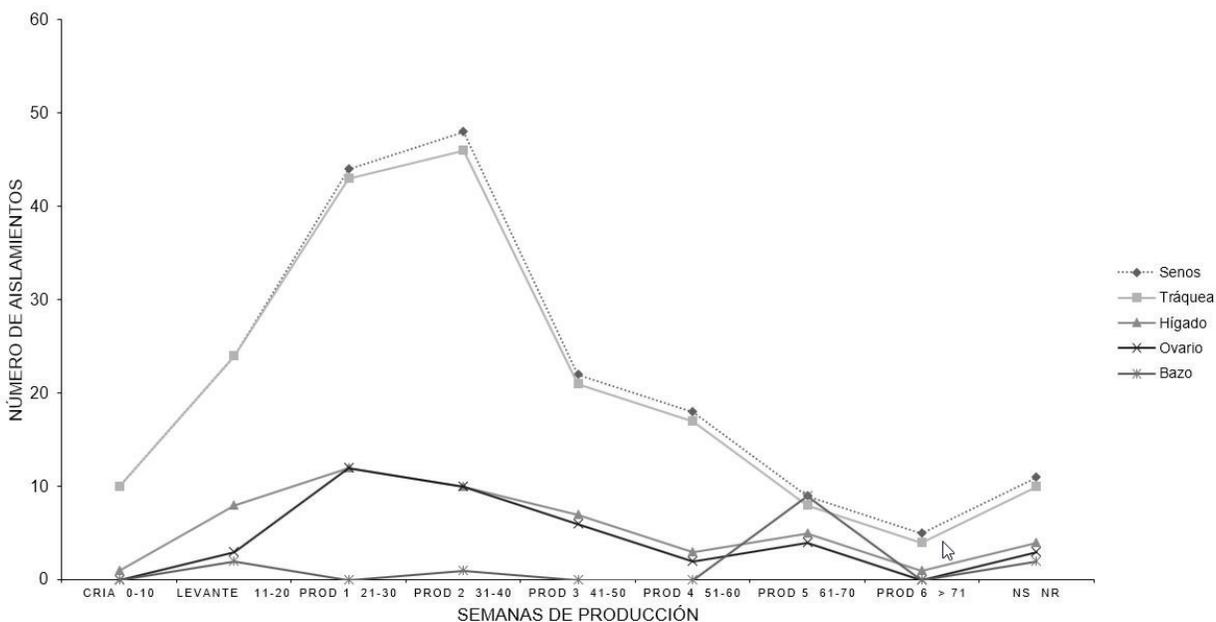


Figura 6. Aislamientos de *Gallibacterium anatis* distribuidos por edad y por tipo de muestra para cultivo

CONCLUSIONES

El mayor número de casos positivos para *G. anatis* se determinó en las zonas 1 y 5, que se corresponden al norte del Valle del Cauca y el oriente de Cundinamarca, donde existe una alta densidad de aves y condiciones variables de bioseguridad.

El periodo en el que se observó un mayor número de casos positivos de *G. anatis*, corresponde al

periodo comprendido entre las semanas 21 a 40, donde se inicia y mantiene el pico de producción, etapa crítica de producción. Lo anterior permite recomendar el establecimiento de medidas preventivas y de control que minimicen la aparición de factores predisponentes que permitan la colonización interna por este organismo.

El número de aislamientos de *G. anatis* en el ovario, resultó más alto que en otros órganos internos como el hígado. Lo anterior puede indicar que su presencia está relacionada con estado patológicos y pérdidas de producción.

LITERATURA CITADA

- Bojesen, A; Nielsen, S; Bisgaard, M. 2003. Prevalence and transmission of haemolytic *Gallibacterium* species in chicken production systems with different biosecurity levels. *Avian Pathology* 32(5):503–510.
- Bojesen, AM; Vazquez, ME; Robles, F; Gonzalez, C; Soriano, EV; Olsen, JE; Christensen, H. 2007. Specific identification of *Gallibacterium* by a PCR using primers targeting the 16S rRNA and 23S rRNA genes. *Veterinary microbiology* 123(1-3):262–268.
- Bojesen, AM; Vazquez, ME; Bager, RJ; Ifrah, D; Gonzalez, C; Aarestrup, FM. 2011. Antimicrobial susceptibility and tetracycline resistance determinant genotyping of *Gallibacterium anatis*. *Veterinary microbiology* 148(1):105-110.
- Campogarrido, MR; Vázquez, ME; González, CP; Sivanandan, V. 2002. Impacto de la *Pasteurella haemolítica* en parvadas comerciales. (Memoria). Convención Anual de la Asociación Nacional de Especialistas en Ciencias Avícolas (27, 2002, Puerto Vallarta, México). Puerto Vallarta, México. 380 p.
- Castillo, G; Koga, Y; Alvarado, A; Tinoco, R; Fernández, D. 2014. Aislamiento e identificación Bioquímica de Cepas de *Pasteurella multocida* y *Gallibacterium anatis* en Aves de Producción con Signos Respiratorios (en línea). *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú* 25(4):516-522. Consultado 08 feb. 2018. Disponible en <https://dx.doi.org/10.15381/rivep.v25i4.10812>
- Christensen, H; Bisgaard, M; Bojesen, AM; Mutters, R; Olsen, JE. 2003. Genetic relationships among strains of biovars of avian isolates classified as *Pasteurella haemolytica*, “*Actinobacillus salpingitidis*” or *Pasteurella anatis* with proposal of *Gallibacterium anatis* gen. nov., comb. nov. and description of additional genomospecies within *Gallibacterium* gen. nov. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 53(1):275-287.
- El-Adawy, H; Bocklisch, H; Neubauer, H; Hafez, HM; Hotzel, H. 2018. Identification, differentiation and antibiotic susceptibility of *Gallibacterium* isolates from diseased poultry (en línea). *Irish Veterinary Journal* 71:5. Consultado 08 ene. 2018. Disponible en <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5799919/>
- Elbestawy, AR; Ellakany, HF; Abd El-Hamid, HS; Bekheet, AA; Mataried, NE; Nasr, SM; Amarin, NM. 2018. Isolation, characterization, and antibiotic sensitivity assessment of *Gallibacterium anatis* biovar haemolytica, from diseased Egyptian chicken flocks during the years 2013 and 2015 (en línea). *Poultry Science* 97(5):1519-1525. Consultado 08 ene. 2018. Disponible en <http://bit.ly/35E2wlp>
- ICA (Instituto Colombiano Agropecuario). 2017. Censo pecuario nacional (en línea). Censo aviar en Colombia. Consultado 10 feb. 2018. Disponible en <http://bit.ly/30669PO>
- IDEAM (Instituto de hidrología, meteorología y estudios ambientales). 2014. Tiempo y clima (en línea). Boletín mensual de predicción climática. Consultado 20 ene. 2018. Disponible en <http://bit.ly/307NqU7>
- Johnson, TJ; Danzeisen, JL; Trampel, D; Nolan, LK; Seemann, T; Bager, RJ; Bojesen, AM. 2013. Genome analysis and phylogenetic relatedness of *Gallibacterium anatis* strains from poultry (en línea). *PLoS One* 8(1):e54844. Consultado 08 feb. 2018. Disponible en <http://bit.ly/35E1VAb>
- Morales, H; Sanabria, M; Ardila, C; Vergara, G; Manjares, A; Puentes, A. 2012. Reporte de caso clínico de *Gallibacterium anatis* en una granja de colombiana de incubación SAS. *Plumazos* 41:20-25.
- Mirle C, Schoengarth M, Meinhart H, Olm U. 1991. Studies into incidence of *Pasteurella haemolytica* infections and their relevance to hens, with particular reference to diseases of

the egg-laying apparatus. Monatshefte fuer Veterinaermedizin 46(15):545–549.

Navas, A. 2010. Importancia de los sistemas silvo-pastoriles en la reducción del estrés calórico en sistemas de producción ganadera tropical (en línea). Revista de Medicina Veterinaria 19:113-122. Consultado 08 ene. 2018. Disponible en <http://bit.ly/2QHGES5>

Osuna, R; Molina, R; Munguía, J; Hernández, J; López, J; Acuña, M; Martínez, V; Robles, J; Icedo, J. 2017. Resistencia antimicrobiana de *Gallibacterium anatis* aisladas de gallinas

de postura comercial en Sonora, México (en línea). Revista mexicana de ciencias pecuarias 8(3):305-312. Consultado 08 feb. 2018. Disponible en <http://bit.ly/2QEefft>

Singh, S; Singh, B; Sinha, D; Kumar, V; Vadhana, P; Bhardwaj, M; Dubey, S. *Gallibacterium anatis*: an emerging pathogen of poultry birds and domiciled birds (en línea). Journal of Veterinary Science and Technology 7(3):1-7. Consultado 08 feb. 2018. Disponible en <http://bit.ly/35Gq88Q>