

REVISIÓN SOBRE CORIZA INFECCIOSA

Philosophal Dr. Horacio Raúl Terzolo. 2005. E.E.A. INTA Balcarce.

www.produccion-animal.com.ar

Volver a: [Enfermedades de las aves](#)

RESUMEN

Esta es una enfermedad del género *Gallus* causada por *Haemophilus paragallinarum*. La bacteria necesita para su crecimiento de la adición del ácido nicotín-adenín-dinucleótido (NAD), aunque se han descrito cepas independientes en Sudáfrica que adquieren su independencia mediante un plásmido transmisible por transformación. Los signos clínicos más comunes son descarga nasal, hinchazón facial, lagrimeo, anorexia y diarrea. Es una dolencia muy importante en gallinas ponedoras sobre todo porque reduce la producción de huevos aunque también se han descrito brotes en pollos parrilleros en Norte y Sud América. La enfermedad clásica afecta únicamente al tracto respiratorio superior causando sinusitis y conjuntivitis aunque en asociación con otras enfermedades se han encontrado lesiones de neumonía, aerosaculitis, septicemia y artritis.

Esta bacteria sobrevive sólo pocas horas fuera del ave por lo cual sería recomendable desarrollar un medio de transporte para hisopados del seno infraorbitario. En el futuro el diagnóstico bacteriológico por el método clásico de aislamiento podría ser reemplazado por una nueva prueba de PCR que es más sensible y rápida pero que, sin embargo, no diferencia serovariedades. El diagnóstico serológico todavía requiere de más investigación para desarrollar una prueba que tenga aplicación en poblaciones avícolas. Los antígenos hemoaglutinantes se relacionan con la patogenicidad. Se distinguen tres serovariedades (A, B y C) por una prueba de hemoaglutinación inhibición.

En Argentina y Brasil existen cepas A variantes que no son detectadas por los anticuerpos monoclonales específicos para cepas A. Las cepas B de la Argentina son genéticamente distintas a otras cepas del mundo de cualquier serovariedad. Tanto en Argentina como en Sudáfrica se han descrito cepas C que no tienen protección cruzada entre sí cuando las aves vacunadas son desafiadas. Las vacunas inactivadas destinadas al mercado internacional se elaboran por grandes firmas comerciales con cepas estándar de las tres serovariedades mientras en los mercados nacionales firmas comerciales locales preparan vacunas que incluyen cepas regionales. El uso de cepas regionales serotipificadas se justifica pues tanto en Argentina como en Sudáfrica se han producido fallas vacunales debidas a la aparición de cepas variantes no incluidas en las vacunas inactivadas que se utilizaban. Las futuras investigaciones deberían orientarse hacia la búsqueda de nuevas vacunas vivas basadas en cepas atenuadas, que pudieran utilizarse en reemplazo de las actuales bacterinas, para lograr de ese modo protección cruzada entre las todas las serovariedades y sus variantes antigénicas.

INTRODUCCIÓN

La Coriza Infecciosa es una enfermedad respiratoria de las gallinas domésticas causada por la bacteria *Haemophilus paragallinarum*. Otras especies animales no se enferman exceptuando los faisanes y gallinas de Guinea. La enfermedad está difundida mundialmente y causa importantes pérdidas económicas a la industria avícola sobre todo al disminuir la producción de huevos. Recientemente se ha descrito también esta enfermedad en pollos parrilleros de Norte y Sud América estando asociado *H. paragallinarum* con otros agentes bacterianos y víricos. El ser humano no es susceptible y por lo tanto la coriza no tiene implicancia para la salud pública.

El objetivo de esta revisión es brindar a los lectores las últimas novedades y resaltar, de manera concisa, los principales aspectos generales de interés para las ciencias veterinarias. También se advertirá sobre los temas en los cuales se requiere dedicar más esfuerzos para investigar y cómo se deberían desarrollar nuevas estrategias para la profilaxis y el control de esta importante enfermedad. Por razones de espacio se han seleccionado las citas bibliográficas de las últimas revisiones sobre el tema, agregando sólo algunos trabajos específicos de interés para completar los conceptos que se discuten. Se revisará con mayor detalle la información referente a nuestro país para aportar elementos prácticos de consulta y sobre todo recomendaciones aplicadas a nuestro medio.

ETIOLOGÍA

El género *Haemophilus* ha sido tradicionalmente definido como integrado por bacterias Gram negativas que requieren uno o dos factores de crecimiento: hemina (factor X) y nicotín-adenín-dinucleótido (NAD o factor V). Dentro de este género *H. paragallinarum* es el agente etiológico de la coriza infecciosa. Otras tres especies bacterianas de la gallina doméstica, antes integrantes del género *Haemophilus* y descriptas en conjunto como *H. avium*, se encuentran actualmente ubicadas dentro del género *Pasteurella*: *P. avium* y *P. volantium* y "*Pasteurella* especie A". Las dos primeras son completamente apatógenas mientras que la última se ha descrito como levemente viru-

lenta para el tracto respiratorio de la gallina, aunque ninguna de ellas es causante de coriza. Clásicamente estas cuatro especies bacterianas requieren únicamente del NAD para desarrollar. Originalmente la bacteria considerada el agente causal de la coriza infecciosa se denominó *H. gallinarum* y erróneamente se demostró que requería ambos factores de crecimiento. Ello fue debido a que los antiguos medios de cultivo disponibles para las pruebas tenían serias deficiencias. Por ello, se cuestiona la vieja descripción de *H. gallinarum* y sólo se considera la existencia de *H. paragallinarum*, que necesita sólo del NAD para su crecimiento. Es interesante acotar que varios de los discos comerciales actuales erróneamente identifican a *H. paragallinarum* como dependiente del factor X por lo cual se debe realizar la prueba de la porfirina en vez de la prueba con los mencionados discos. *H. paragallinarum* es realmente un hemófilo atípico. De hecho existe evidencia taxonómica de que esta especie bacteriana se encuentra más estrechamente relacionada con el género *Actinobacillus* que con el género *Haemophilus*.

El concepto taxonómico que hasta ahora se sustentaba para definir el género *Haemophilus* ha sido bruscamente cambiado en la literatura internacional cuando en Sudáfrica se describieron brotes de coriza infecciosa causados por cepas de *H. paragallinarum* NAD independientes que son taxonómicamente muy similares a las cepas clásicas. Estas bacterias adquieren la capacidad de sintetizar el NAD al captar el DNA de un plásmido por transformación. Este plásmido puede además difundirse por transformación entre distintas cepas de *H. paragallinarum* y posiblemente también entre las citadas pasteurelas NAD dependientes de las aves. Quizás por este motivo en Sudáfrica también existen cepas NAD independientes de *P. avium*, *P. volantium* y "*Pasteurella* especie A".

Es importante acotar que en este país también se describieron cepas de *H. influenzae* de origen humano que desarrollan también independientes del NAD. Esto significa que en Sudáfrica podría existir una infección generalizada por el citado plásmido. Más interesante aún es que las cepas transformadas mantienen inalterados sus antígenos hemoaglutinantes (AgHems) por lo cual sería posible eliminar en el laboratorio la dependencia del NAD en cepas destinadas a la elaboración de vacunas. Este nuevo concepto permitiría elaborar vacunas con cepas de más fácil crecimiento al eliminar la dependencia del NAD. Esta posibilidad debe ser considerada con mucha cautela pues las cepas de *H. paragallinarum* independientes del NAD han demostrado ser muy patógenas y de hecho van reemplazando paulatinamente a las dependientes en los brotes de la coriza que se registran en Sudáfrica. Por ello, para un país como el nuestro, en el cual no se han registrado aislamientos de cepas independientes del NAD sería peligroso introducir este plásmido para transformar a las cepas regionales, destinadas a la elaboración de vacunas, si no se cuenta con una muy estricta seguridad biológica. Aún más, si bien la coriza infecciosa existe en nuestro país desde hace varios años, hasta la fecha no se han detectado cepas independientes del NAD por lo cual este tipo particular de coriza infecciosa debería ser considerada una enfermedad exótica cuando es causada por cepas NAD independientes.

PATOGÉNESIS

H. paragallinarum infecta al ave por vía respiratoria y luego de un corto período de incubación, que varía entre 1 a 3 días, produce una enfermedad que se manifiesta por inflamación catarral de los senos paranasales. Dado que esta bacteria sobrevive únicamente durante unas 5 hs fuera del ave, el contagio sólo se produce a través de los animales infectados, que ya han padecido la enfermedad y que permanecen como portadores de la bacteria en la granja durante prolongado tiempo. En la coriza clásica no complicada las lesiones generalmente quedan confinadas al tracto respiratorio superior. La sinusitis puede estar asociada a inflamación de los barbillones, conjuntivitis o queratitis. Los síntomas clínicos persisten por 3 a 7 días y luego se produce su remisión. Los cambios patológicos que se desencadenan a partir de las 20 horas post-infección (PI) alcanzan su máxima severidad a los 7-10 días PI y la reparación subsecuente recién finaliza a los 14-21 días PI.

En las gallinas ponedoras causa alta morbilidad, baja o nula mortalidad y una importante pérdida en la producción de huevos, la que generalmente oscila entre un 10% y un 40%. En pollos parrilleros puede causar un cuadro similar al descrito como "cabeza hinchada". Los casos de neumonía y aerosaculitis son menos frecuentes aunque también suelen ocurrir en las infecciones puras por estos hemófilos cuando las cepas infectantes tienen capacidad para producir septicemia. En estos casos se ha aislado *H. paragallinarum* de órganos internos, articulaciones y de globos oculares con o sin lesiones. Cuando se producen casos de coriza infecciosa complicada con *Mycoplasma* sp. las lesiones respiratorias se agravan siendo comunes las neumonías y aerosaculitis complicadas con *E.coli*, prologándose la duración de la enfermedad hasta por 50 días. Muchas veces cuando las lesiones ya se encuentran en franca remisión y *H. paragallinarum* ya no puede aislarse del tracto respiratorio, *P. gallinarum* produce a continuación una sinusitis y panoftalmía purulentas muy severas, con pérdida del globo ocular y reemplazo de su contenido por masas caseosas. En Argentina *P. gallinarum* es el agente infeccioso oportunista más común en gallinas ponedoras mientras que en aves más jóvenes, como los pollos parrilleros la bacteria más frecuentemente asociada a casos coriza infecciosa es *E.coli*.

SÍNTOMAS CLÍNICOS

La coriza infecciosa ha sido descrita como una enfermedad sólo importante para la gallina en postura. Sin embargo esta enfermedad ocurre tanto en pollos parrilleros y pollas en recría como en gallinas ponedoras y reproductoras. Los síntomas más comunes son descarga nasal, tumefacción facial, lagrimeo, anorexia y diarrea. Cuando la infección se difunde al tracto respiratorio inferior los animales afectados evidencian rales. Como consecuencia de estos síntomas disminuye el consumo de alimentos y agua con el consiguiente retardo en el crecimiento o disminución de la postura, aumentando el número de aves que deben descartarse⁴. En pollos parrilleros se han descrito casos más severos, aunque menos frecuentes, caracterizados por celulitis fibrinopurulenta de la cabeza y barbillones, aerosaculitis, septicemia generalizada y artritis.

En los casos de coriza no complicada generalmente se produce alta morbilidad y baja o nula mortalidad. Sin embargo, si la cepa infectante es muy patógena o si existe asociación con otros agentes infecciosos puede ocurrir alta mortalidad. De hecho en Argentina, India, Moroco, Sudáfrica y Tailandia se han descrito casos de Coriza infecciosa causantes de mortalidad producida cepas por cepas de *H. paragallinarum* muy patógenas y con frecuencia asociadas a otros agentes víricos o bacterianos.

CORIZA INFECCIOSA COMPLICADA

Cuando *H. paragallinarum* se asocia con otros agentes se agrava el curso de la enfermedad, que entonces se denomina "coriza infecciosa complicada". Entre los agentes bacterianos más comunes deben mencionarse *Escherichia coli*, *P. gallinarum* y *Mycoplasma gallisepticum* y menos frecuentemente *P. haemolytica*, *P. multocida*, *M. synoviae* y *Salmonella enterica*. Más recientemente se describe a una nueva especie, denominada *Ornithobacterium rhinotracheale*, como agente asociado a coriza infecciosa y con capacidad patógena para producir *per se* infecciones respiratorias en gallinas ponedoras y pollos parrilleros. Las citadas *P. avium*, *P. volantium* y "*Pasteurella* especie A" también pueden asociarse con *H. Paragallinarum*. La coriza infecciosa puede ocurrir en forma simultánea con diversas infecciones virales del tracto respiratorio, siendo las asociaciones más frecuentes con la viruela, bronquitis y laringotraqueítis infecciosas.

PATOLOGÍA

H. paragallinarum produce inflamación catarral aguda de las membranas mucosas de la nariz y senos infraorbitarios. Frecuentemente se produce edema subcutáneo de la cabeza y barbillones y conjuntivitis catarral. Los cambios en la mucosa de la cavidad nasal, senos y tráquea consisten en descamación, desintegración e hiperplasia del epitelio glandular y mucosal, edema e hiperemia con infiltración de heterófilos, mastocitos y macrófagos en la lámina propia. Cuando se afecta el tracto respiratorio inferior se produce bronconeumonía catarral aguda con presencia de heterófilos y restos celulares que ocupan la luz de los bronquiolos secundarios y terciarios; las células epiteliales de los capilares se encuentran inflamadas e hiperplásicas. Los alvéolos tienen inflamación catarral caracterizada por tumefacción e hiperplasia celular con abundante infiltración de heterófilos. Los productos de la inflamación de los mastocitos, heterófilos y macrófagos pueden ser los responsables de los severos cambios vasculares y daño celular de la coriza infecciosa⁴.

ANTÍGENOS DE H. PARAGALLINARUM

Se reconocen tres tipos de antígenos: L (sensible al calor y a la tripsina), HL (sensible al calor y resistente a la tripsina) y HS (estable al calor y resistente a la tripsina). Los antígenos L existen en tres formas (L1, L2 y L3). Los antígenos L1 y L2 son respectivamente responsables de la especificidad de serovariedades de Page A y C. El resto de los antígenos (L3, HL y HS) son comunes a todas las cepas.

El antígeno más importante de las cepas patógenas es el antígeno hemoaglutinante (AgHem). Una cepa de *H. paragallinarum* es patógena cuando es capaz de adherirse a las células que tapizan el epitelio respiratorio. El requisito de adherencia al tracto respiratorio tiene estrecha relación con la hemoaglutinación. Esto se debe a que los eritrocitos y las células del epitelio respiratorio comparten antígenos comunes. De hecho, las cepas que pierden su capacidad de hemoaglutinar también dejan de ser patógenas. La vacunación de aves con AgHem purificado mediante anticuerpos monoclonales (AcM) induce protección frente a desafíos²³. Además la administración pasiva por vía intraperitoneal de AcM contra el AgHem purificado suprime el crecimiento de *H. paragallinarum* en el epitelio nasal o sinusal²². Estos AcM tienen actividad bactericida *in vitro* y posiblemente ejerzan mecanismos de opsonización *in vivo*. Este antígeno hemoaglutinante no siempre se expresa espontáneamente pues algunas cepas lo tienen enmascarado por antígenos capsulares superficiales que impiden su expresión. Como veremos más adelante mediante procedimientos de laboratorio es posible eliminar estas cápsulas para tornar a las cepas hemoaglutinantes⁷.

Además del AgHem se han descrito otros antígenos de *H. paragallinarum* que también inducen protección en las aves inmunizadas. Entre ellos cabe mencionar la cápsula, polisacáridos, lipopolisacáridos y proteínas de membrana externa.

ESQUEMAS DE SEROTIPIFICACIÓN Y SEROVARIEDADES

En todos estos esquemas se empleó suero policlonal hiperinmune de conejo para clasificar antigénicamente a las cepas. El primer estudio serológico de *H. paragallinarum* lo realizó Page, quien mediante pruebas de aglutinación en placa describió tres serovariedades: A, B y C. Otros autores describieron distintos esquemas de serotipificación que posteriormente se equipararon al original de Page: Sawata 1 (Page A) y 2 (C) y Kume I (A), II (C) y III (B). Actualmente las tres serovariedades de Page pueden ser reconocidas por pruebas de inhibición de la hemaglutinación (HI). Existen dos pruebas de HI que utilizan cepas de referencia con AgHem de cada una de las tres serovariedades de Page y eritrocitos de pollo fijados con glutaraldehído. Las cepas de la serovariedad A son generalmente muy hemoaglutinantes mientras que las cepas de las serovariedades B y C necesitan tratamientos previos de los antígenos antes de realizar la prueba de HI. Para ello se utilizan tratamientos con hialuronidasa o también sonicación combinada con tiocianato de potasio. La prueba de HI descrita por Blackall *et al.* es la más utilizada y detecta las tres serovariedades de Page mientras que la de Kume *et al.* permite la detección de 4 subtipos dentro de cada una de las serovariedades A y C de Page. Estos subtipos se denominan A1, A2, A3 y A4 y C1, C2, C3 y C4. Esta clasificación se realiza mediante sueros adsorbidos aunque no se utiliza rutinariamente porque la técnica es complicada y los subtipos no tienen relación con la protección vacunal³.

H. PARAGALLINARUM SEROVARIEDAD B

Una mención especial merece la historia sobre las cepas de la serovariedad B. Durante muchos años se creyó que esta serovariedad, representada por las únicas 2 cepas disponibles (Spross y 0222), no existía realmente sino que estaba compuesta por un grupo de cepas variantes apatógenas y no capsuladas de la serovariedades A o C que habían perdido su antígeno específico de serovariedad. Por ese motivo durante varios años la mayoría de las vacunas contenían únicamente a las serovariedades A y C. Actualmente, debido a la aparición de cepas patógenas y capsuladas de esta serovariedad en Argentina, Sudáfrica, Brasil y Filipinas este antiguo concepto fue dejado de lado y actualmente no se discute que las cepas de la serovariedad B existen como tales y deben ser incluidas en las vacunas. Además Bowles *et al.* en un estudio comparativo determinaron la diversidad genética y las relaciones entre 118 cepas provenientes de seis continentes analizando la variación de la movilidad electroforética en 8 enzimas metabólicas codificadas por genes cromosomales. Es interesante destacar que en este trabajo las cepas del mundo se agruparon en dos clusters heterogéneos mientras 9 cepas de la serovariedad B de la Argentina ocuparon un cluster diferente, demostrando que las mismas están genéticamente bien distanciadas del resto de las cepas estudiadas, independientemente de la serovariedad a la cual pertenecen. Esto significa que las cepas B de la Argentina fueron incluso diferentes a otras cepas B de diversas regiones del mundo.

Es evidente que existe diversidad antigénica entre las cepas de la serovariedad B. Se ha demostrado que las vacunas bivalentes preparadas con la serovariedades A y C brindan protección cuando las aves son desafiadas con la cepa B Spross aunque estas mismas vacunas son ineficaces para proteger las aves cuando se desafían con dos cepas B de Sudáfrica. En otro estudio realizado en Argentina se demostró que una vacuna trivalente preparada con cepas de referencia de las tres serovariedades fue ineficaz para proteger a las aves cuando fueron desafiadas con cepas B de la Argentina. Por ello es necesario subrayar que se requieren completar las investigaciones con las cepas B y es posible que las mismas incluyan subtipos de interés para la selección de cepas vacunales.

ANTICUERPOS MONOCLONALES

En Sudáfrica se utilizó un panel de 3 AcM de ratón denominados V1, F1 y VF3 para demostrar que el antígeno lipopolisacárido V1 que expresa la cepa vacunal de referencia de la serovariedad A (0083) casi no existía en las cepas que producían los brotes de coriza en el campo; en cambio en éstas predominaba el antígeno proteico F1, que también era producido en menor cuantía por las cepas vacunales. Este trabajo demostró que existen variaciones en la expresión los antígenos a través del tiempo y que en esa oportunidad se producían vacunas con cepas que tenían antígenos de poca utilidad para ejercer protección, pues no eran representativos de la real situación de las cepas de campo presentes en ese momento¹⁰.

En Japón se desarrolló un AcM de ratón que detecta a todas las cepas de la serovariedad A del mundo excepto a algunas cepas de la serovariedad A de la Argentina y del Brasil⁸. También se obtuvo otro AcM específico para subtipos A1 y A2 de Kume y tres AcM para diversos subtipos C de Kume. Interesa destacar que ninguna de las cepas de la serovariedad B es detectada por los AcM conocidos anti-A o anti-C, ya sean sudafricanos o japoneses. Estos estudios demuestran dos cosas: por un lado las cepas B son distintas y no representan variables antigénicas de las cepas A o C. Por otro lado las cepas A de la Argentina y del Brasil son diferentes a las cepas A del resto del

mundo. Habría que demostrar si estas diferencias antigénicas representan en realidad diferencias en la protección vacunal de acuerdo con el tipo de cepa regional que se utilice en la elaboración de las vacunas.

DIAGNÓSTICO BACTERIOLÓGICO

Se recomienda el estudio de 3 o 4 aves con síntomas agudos de coriza. Si se seleccionan las aves luego del 5° al 7° día PI puede que *H. paragallinarum* ya no se encuentre y sólo se obtengan bacterias complicantes de la enfermedad. El procedimiento de toma de muestras se debe efectuar con estricta esterilidad. Para ello, una vez sacrificada el ave, se cauteriza la piel ubicada debajo de los ojos, se practica una incisión sobre el seno paranasal correspondiente, se separa la piel en la incisión y se introduce en la cavidad del seno un hisopo estéril humedecido en un caldo nutritivo o solución salina fisiológica tamponada a pH neutro. Lo más recomendable es el cultivo antes de las 5 horas debido a la reducida viabilidad de *H. paragallinarum* en los hisopados. En el INTA de Balcarce hemos desarrollado un medio de transporte que permite la supervivencia de las bacterias por varios días (datos no publicados) cuando se combina caldo Columbia con sangre equina hemolizada al 7% y antibióticos para inhibir a los contaminantes en una base de agar semisólido; consideramos que estos estudios deberán ser profundizados dado que a veces se requieren efectuar aislamientos en granjas distantes del laboratorio. Para la siembra de los hisopos pueden usarse placas de agar sangre con el agregado de estrías "alimentadoras" de *Staphylococcus* spp., que eliminan factor V, o bien usar agar chocolate o agar con sangre hemolizada en vez de los estafilococos. Las colonias de *H. paragallinarum* son mucho más grandes y visibles cuando se utiliza agar con sangre chocolatada o hemolizada. El uso de medios de cultivo selectivos con antibióticos e incubados a 37° C, durante 48 horas en una atmósfera microaerofílica, es un procedimiento que permite diferenciar y aislar a los hemófilos en pureza, aún cuando la flora bacteriana sea compleja. La atmósfera microaerofílica puede obtenerse mediante el clásico método de la vela que consiste en incubar las placas en un recipiente herméticamente cerrado con una vela que se mantiene encendida hasta que se apaga al consumirse parte del oxígeno contenido en el recipiente o bien usando las distintas opciones disponibles para la obtención de atmósferas para el aislamiento de bacterias del género *Campylobacter*. La identificación de *H. paragallinarum* debe ser efectuada mediante pruebas bioquímicas diferenciales. Como se señaló anteriormente la dependencia o independencia del NAD no permite inferir si se trata de *H. paragallinarum* o de pasteurelas, sobre todo en aquellos lugares donde existen cepas independientes del NAD.

Los hemófilos fermentan la glucosa con formación de gas y como las pasteurelas reducen los nitratos a nitritos y son oxidasa positivos. Las pasteurelas de las aves son todas catalasa positivas, mientras que el *H. paragallinarum* y el *O. rhinotracheale* son negativos. *O. rhinotracheale* no requiere NAD. La diferenciación fenotípica entre las especies debe ser realizada mediante la acidificación de algunos hidratos de carbono. *H. paragallinarum* no fermenta ni a la galactosa ni a la trehalosa mientras que todas las pasteurelas del grupo "*H. avium*" lo hacen rápidamente. Los *H. paragallinarum* NAD independientes son negativos a la prueba de la b -galactosidasa y no fermentan a la maltosa mientras que los NAD dependientes son siempre positivos a ambas pruebas. Una característica diferencial descubierta por nosotros en el INTA de Balcarce es la incapacidad de *H. paragallinarum* de reducir el clorhidrato de 2,3,5-trifenil-tetrazolio o TTC (incoloro) mientras que todas las pasteurelas y enterobacterias lo reducen a formazán (de color rojo).

Cuadro 1. Diferenciación de *H. paragallinarum*, pasteurelas del grupo "*H. avium*" y *O. rhinotracheale*

Pruebas	<i>O. rhinotracheale</i>	<i>H. paragallinarum</i>	<i>P. avium</i>	<i>P. volantium</i>	<i>Pasteurella</i> species A
Catalasa	- ^a	-	+	+	+
Pigmento	-	-	+	+	-
Microaerofilia	+	+	-	-	-
b -galactosidasa	+	+ ^b	-	+	V
Arabinosa	-	-	-	-	+
Galactosa	+	-	+	+	+
Maltosa	+	+ ^b	-	+	V
Manitol	-	+	-	+	V
Sorbitol	-	V	-	V	-
Sacarosa	-	V	+	+	+
Trehalosa	-	-	+	+	+

-^a: el 90% de las cepas de *O. rhinotracheale* son catalasa negativas

+^b: Los *H. paragallinarum* NAD independientes son negativos a la prueba de b -galactosidasa y fermentación de la maltosa

DIAGNÓSTICO MOLECULAR

Recientemente se han descrito sondas de ADN y pruebas de reacción en cadena por la polimerasa (PCR) específicas para detectar el ADN de *H. paragallinarum* directamente en hisopados de los senos paranasales. El PCR, aunque todavía no está disponible comercialmente, parece ser una alternativa factible para reemplazar los cultivos bacteriológicos por una técnica rápida. Esta prueba permite obtener resultados en sólo 6 horas, lo cual constituye una ventaja sobre los cultivos, que demoran en crecer entre 2 y 3 días y cuyo diagnóstico identificatorio final demora por lo menos una semana. Además, por esta técnica más de 40 cepas de *H. paragallinarum* fueron detectadas como positivas, incluyendo las NAD-independientes de Sudáfrica y las variantes de Page serovar A de Brasil y Argentina así como las particulares cepas B de la Argentina¹⁵. El PCR, llamado HP-2, es específico puesto que ha dado reacciones negativas con bacterias estrechamente relacionadas a *H. paragallinarum* como las NAD-dependientes *P. volantium*, *P. avium* y *Pasteurella* spp. así como también con *O. rhinotracheale*. El PCR HP-2 ha sido exitosamente evaluado en aves experimentalmente inoculadas en Australia y en material clínico en China. De hecho, en este último país, ha sido demostrado que este PCR tiene mayor sensibilidad que los cultivos bacteriológicos. Así, el PCR HP-2 detectó como positivas a 15 de las 39 aves estudiadas y a 6 de las 8 granjas investigadas, mientras que, en las mismas muestras, el cultivo sólo detectó 8 aves y 4 granjas. Todos estos diagnósticos fueron clínicamente confirmados en las granjas, demostrando que esta técnica no sólo es más rápida sino que también es altamente sensible y específica. Adicionalmente, se ha demostrado que cuando las muestras han sido mantenidas hasta 180 días a 4° C ó -20° C la mayoría de las muestras positivas permanecen positivas por el PCR. En contraste, todos los cultivos fallaron en detectar a *H. paragallinarum* después de 3 días de conservación a 4° C ó -20° C. Si bien, a primera vista, esta tecnología parece ser muy compleja y costosa, una vez adoptada podrá proporcionar diagnósticos muy rápidos y confiables. Sin embargo, este método tiene el inconveniente de que no detecta serovariedades de Page, de modo que para efectuar un diagnóstico que incluya serotipificación de la cepa actuante en un brote, es necesario el aislamiento de la bacteria y su posterior cultivo para la producción de los correspondientes antígenos hemoaglutinantes.

DIAGNÓSTICO SEXOLÓGICO

Se han desarrollado una variedad de pruebas serológicas para detectar anticuerpos contra *H. paragallinarum*, tanto en aves vacunadas como en enfermas. Así se han utilizado pruebas de aglutinación en placa, aglutinación con látex, HI y agar gel precipitación. Los anticuerpos aglutinantes aparecen a los 10 o 14 días después de la infección o vacunación y pueden persistir hasta un año después del contacto con la bacteria. En cambio, los anticuerpos precipitantes se manifiestan a la 2ª semana PI y sólo se mantienen hasta la 11ª semana PI. Las aves se consideran serológicamente positivas cuando sus sueros reaccionan sin diluir en las pruebas de aglutinación o bien con títulos bajos, de 1/5 o mayores, en pruebas de HI. Antes de realizar estas pruebas se deben absorber los sueros con suspensiones de 5 ó 10% de glóbulos rojos de pollo fijados con glutaraldehído para eliminar las reacciones inespecíficas. Como se señaló anteriormente, las cepas de distintas serovariedades de Page comparten antígenos comunes y por ello las pruebas de aglutinación no detectan anticuerpos específicos de serovariedad sino un nivel general de anticuerpos contra coriza infecciosa. La prueba de HI es la más específica de las pruebas pues puede realizarse con cepas de cada una de las serovariedades de Page y es también la más conveniente puesto que, como se reseñó más arriba, los AgHems tienen relación directa con la protección. Recientemente se desarrolló una prueba de ELISA con AcM aunque esta prueba tiene serios inconvenientes que la hacen poco práctica³. Por un lado no está comercialmente disponible y además sólo sirve para la detección de algunas cepas de las serovariedades A y C. Además de existir AcM específicos para detectar a las cepas de la serovariedad B, los AcM A fallan en detectar el 40% de los aislamientos de la Argentina y del Brasil y los AcM C no reaccionan con las cepas C-4 de Australia. Todos estos resultados indican que hasta la fecha no existe una prueba serológica de uso masivo que pueda usarse para evaluar en forma sistemática el nivel inmunitario de la población avícola. Indudablemente, este es un tema en el que se requiere más investigación.

DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL

En pollos parrilleros es importante diferenciar la coriza infecciosa del síndrome de cabeza hinchada causado por el virus de la rinotraqueítis de pavo (TRT); en esta enfermedad no existe inflamación de los senos paranasales sino que la tumefacción se localiza únicamente alrededor de los ojos. En estos casos la coriza infecciosa se confirma mediante la demostración de ausencia de serología positiva a virus TRT y el aislamiento, PCR o detección por inmunoperoxidasa en senos infraorbitarios de *H. paragallinarum*.

Cuando las cepas de *H. paragallinarum* son invasivas y producen aerosaculitis, que puede estar o no asociada a otras bacterias, es importante efectuar un diagnóstico diferencial con la enfermedad crónica respiratoria. Cuando se produce extensión del proceso inflamatorio a barbillones es importante distinguir esta enfermedad del cólera crónico por *P. multocida*. Si se producen casos de artritis es importante cultivar también con medios que posibiliten el aislamiento de *H. paragallinarum* además de buscar otros agentes causales como virus, *Mycoplasma galli-*

septicum, *M. synoviae*, *Staphylococcus aureus*, *P. multocida*, *P. gallinarum* o *Salmonella enterica* entre otros. También se cita que la hipovitaminosis A y la viruela en ocasiones pueden producir síntomas clínicos similares⁷.

INFECCIÓN EXPERIMENTAL Y ENSAYOS DE PROTECCIÓN CRUZADA

Como se expuso más arriba, exceptuando los faisanes y gallinas de Guinea, ningún ave ya sea doméstica o silvestre es susceptible a la infección por *H. paragallinarum*. Tampoco son susceptibles los animales de laboratorio como los conejos, ratones o cobayos. Por ello, para reproducir experimentalmente esta enfermedad lo mejor es utilizar su huésped natural, el género *Gallus gallus*. El método de infección más adecuado es la inoculación en el seno infraorbitario de cultivos de *H. paragallinarum*. Por la vía intranasal también es posible reproducir la enfermedad pero en este caso los resultados suelen ser variables.

Los pollitos BB son resistentes a la infección por vía respiratoria, por ello se deben emplear pollitos de más de 7 días de edad cuando se utiliza esa vía. Los pollos de 4-8 semanas se infectan en un 90% mientras que pollos de 13 semanas de edad o mayores son 100% susceptibles. En general, el período de incubación se acorta y el curso de la enfermedad tiende a alargarse en aves de mayor edad⁴.

Es necesario tener modelos de reproducción de la enfermedad para la correcta selección de cepas de campo a emplear en las vacunas. Estos modelos pueden utilizarse para conocer la difusión horizontal, patogenicidad y capacidad septicémica de las cepas en estudio. Además, como veremos más adelante, los mismo modelos combinados con la aplicación de vacunas experimentales pueden utilizarse para evaluar el grado de protección que ofrecen las vacunas frente al desafío de la cepa vacunal comparada con otras de distinto origen. Estos ensayos se denominan pruebas de protección cruzada.

Para conocer el grado de difusión horizontal de las cepas se utiliza un modelo que consiste en inocular una o dos aves por vía intranasal con diez millones de bacterias viables y dejarlas alojadas durante 10 días en estrecho contacto con otros 6-8 animales de igual tipo y edad; las aves se observan diariamente para determinar grado contagio y al cabo de ese tiempo se cultivan ambos senos infraorbitarios.

En cambio, para conocer la patogenicidad de las cepas, la misma dosis de inóculo se aplica a todos las aves del grupo y éstas se sacrifican entre el 5-6 día PI, realizándose entonces cultivos bacteriológicos de ambos senos infraorbitarios y globos oculares. Este último modelo se utiliza también para evaluar vacunas en pruebas de protección cruzada. En estos ensayos el porcentaje de protección se define como el porcentaje de aves vacunadas que no presentan signos clínicos, que no tienen mucus en los senos infraorbitarios y en los cuales no es posible aislar la cepa inoculada²⁶.

Con el objetivo de determinar la capacidad septicémica de aislamientos de campo se utiliza un modelo que consiste en inocular pollitos BB de un día de edad, libres de patógenos específicos (SPF) o bien convencionales, por vía intraperitoneal con 10 y 10 bacterias viables de *H. paragallinarum*. Sólo las cepas invasivas son capaces de producir elevada mortalidad.

PROTECCIÓN CRUZADA ENTRE SEROVARIEDADES Y VACUNACIÓN

Las aves que se han recuperado de una infección natural adquieren inmunidad contra infecciones subsecuentes, tanto causadas por la misma serovariedad de Page que las infectó originalmente como contra cepas de las otras serovariedades de Page. En otras palabras, la infección natural produce protección cruzada entre las distintas serovariedades de Page. En forma similar, cuando las aves son vacunadas con una cepa viva adquieren inmunidad contra cualquiera de las tres serovariedades de Page. Esta inmunidad se desarrolla a partir de la 2ª semana post-vacunación y tiene larga duración. En general, si las pollas se exponen a una cepa viva de *H. paragallinarum* durante la recría quedan protegidas contra una caída de la postura en el período de producción.

Por el contrario, cuando se inyectan cepas muertas de *H. paragallinarum* la protección cruzada es muy baja o bien queda limitada a la serovariedad que se utilizó para inmunizar a las aves. Se admitió entonces, durante varios años, que si, por ejemplo, un ave se inmuniza con la serovariedad A este animal queda protegido contra sucesivas infecciones por otras cepas distintas pero pertenecientes a esa misma serovariedad A. Lo mismo se consideraba para el caso la serovariedad C. Sin embargo algunos tipos de vacunas muertas podrían ejercer algún tipo de protección cruzada parcial. De los tres tipos descriptos según el tipo de cultivo empleado para su producción - caldo de cultivo, cultivo de tejidos y embrión de pollo - sólo las dos últimas ofrecen alguna protección cruzada². Por lo tanto las bacterinas elaboradas en caldo de cultivo, que son las que se utilizan habitualmente, no producen ningún tipo de inmunización cruzada. Estas bacterinas, para ser eficaces, deben contener en su formulación cepas regionales representativas de las serovariedades de Page presentes en el área geográfica a dónde se van a usar.

Existen varias excepciones a lo enunciado arriba sobre la especificidad de protección para cada serovariedad. Esto se debe a la aparición de cepas variantes. Tanto en Argentina como en Brasil, existen alrededor de un 40% de aislamientos de la serovariedad A de Page que hasta la fecha no han sido reconocidos por el AcM específico para este serovar que reconoce todas las cepas del resto del mundo. Se ha especulado que estas cepas A variantes pueden ser bastante diferentes como para ocasionar fallas vacunales.

También, como se expuso anteriormente, los aislamientos de la serovariedad B de la Argentina son genéticamente muy diferentes a las cepas de todas partes del mundo, independientemente de la serovariedad a la que ellas pertenezcan. Este hecho, unido a una falta de protección de las vacunas que contienen cepas B aisladas en EE.UU. o en Europa cuando se desafían con cepas B de la Argentina, señala que las últimas deberían ser incluidas en las vacunas a emplear en esa región. Existe también más evidencia que respalda la posibilidad de una diversidad antigénica dentro de la serovariedad B de Page. Las vacunas bivalentes basadas en las serovariedades A y C proveen protección contra desafíos efectuados con la cepa Spross de la serovariedad B pero no contra dos serovariedades B de Sudáfrica. Más aún sólo existe protección parcial entre distintas cepas de la serovariedad B. El hecho de que el esquema de Kume sólo reconozca una sola serovariedad B (B-1) no es evidencia de homogeneidad antigénica, sino más bien señala que se han examinado muy pocas cepas de esta serovariedad y seguramente si estas se hubieran estudiado, las cepas B de la Argentina posiblemente podrían conformar un nuevo grupo dentro del esquema de Kume.

Por otra parte, los estudios de protección cruzada realizados en Argentina sugieren la necesidad de incluir más de una cepa C en las bacterinas que se usen en ese país. Estos resultados son comparables con lo descrito en Sudáfrica en donde el aumento de la incidencia del subtipo C-3 de Kume, causó brotes de la enfermedad en aves vacunadas con bacterinas elaboradas exclusivamente con cepas de los subtipos C1 o C2.

Todos estos datos señalan la necesidad de efectuar estudios de protección cruzada con aislamientos actualizados de serovariedades A, B y C presentes en cada región para poder así definir cuantas cepas deberían usarse en las futuras bacterinas. El actual concepto de una vacuna muerta de uso universal deberá ser revisado de ahora en adelante y se evidencia la necesidad de elaborar vacunas con cepas regionales, que posiblemente tengan que contemplar la inclusión de más de una cepa de cada serovariedad. Esto significa que debe revisarse el concepto actual de protección con biológicos y elaborar vacunas inactivadas con mayor cantidad de cepas regionales o bien iniciar nuevas investigaciones con vacunas vivas atenuadas que, en ese caso, sí podrían tener aplicación universal. Es evidente que las investigaciones dirigidas hacia la búsqueda de una cepa atenuada son prioritarias.

ELECCIÓN Y CARACTERÍSTICAS DE LAS VACUNAS

De acuerdo con lo expresado en el ítem anterior, las vacunas vivas atenuadas deberían ser las de elección ya que las mismas producen inmunidad cruzada entre las tres serovariedades de Page, además de brindar una sólida y duradera inmunidad. Inicialmente estas vacunas habían dado resultados exitosos, puesto que cultivos de una cepa C atenuada por mutaciones químicas, cuando fueron instilados en el ojo protegieron contra el desafío de cepas patógenas de la serovariedad C y A. Desafortunadamente, estas vacunas atenuadas no se utilizan por su falta de seguridad, dado que se ha demostrado que estas cepas revierten *in vivo* al tipo patógeno cuando se inoculan por vía intrasinal. Por otro lado, es posible obtener cepas apatógenas naturales o mutadas *in vitro* que carecen del AgHem, pero se ha demostrado que estas cepas son incapaces de proteger tanto contra serovariedades homólogas como heterólogas de Page e inclusive fracasan en proteger a las aves vacunadas contra su propia cepa parental patógena.

La falta de disponibilidad de cepas atenuadas ha determinado que en algunas granjas se utilice el método de exposición controlada. Este procedimiento consiste en vacunar las pollas con una bacterina entre las 15 y 18 semanas de edad y luego, a las 20 semanas de edad, exponer a estas aves a una infección con una cepa patógena regional. La exposición controlada tiene varios inconvenientes, puesto que algunas aves pueden enfermar severamente, siendo entonces necesaria la administración de antibióticos y además siempre quedan en la granja aves portadoras de cepas patógenas que en el futuro pueden desencadenar brotes de coriza infecciosa en aves susceptibles.

Las primeras bacterinas contra coriza infecciosa fueron elaboradas inoculando *H. paragallinarum* en los sacos vitelinos de huevos embrionados de 5-7 días de edad. En varios ensayos se ha demostrado que estas bacterinas son incapaces de proteger a las aves vacunadas contra los síntomas clínicos de la coriza infecciosa, a pesar de que disminuyen las lesiones secundarias de septicemia y aerosaculitis y reducen la caída en la producción de huevos. Por este motivo se han dejado de utilizar y tienen, en cambio, amplia difusión las vacunas elaboradas en caldo de cultivo. Los medios más utilizados son la infusión de carne de pollo, el medio Casman y el caldo cerebro-corazón. Existe un único reporte sobre el empleo satisfactorio de cultivos de tejidos, aunque en la práctica éstos no se utilizan para la producción de estas vacunas. A continuación se describen las características de las bacterinas en caldo de cultivo que son más frecuentemente empleadas.

Para que una bacterina en caldo brinde adecuada protección deben considerarse varios aspectos que hacen a su producción. En primer término deben usarse cepas vacunales representativas de las serovariedades predominantes en la región en donde van a ser aplicadas. Además, estas cepas deben estar mantenidas de modo tal que conserven inalterados sus atributos de virulencia; para ello las cepas deben tener un mínimo de subcultivos desde que se realizó su primo-aislamiento hasta que crecen en el fermentador. Para que ocurra la expresión de antígenos superficiales que pueden estar relacionados con la protección es muy importante que diversas condiciones del cultivo se

ajusten. Entre las mismas cabe citar el volumen de inóculo inicial, pH, porcentaje de cloruro de sodio, nivel de hierro libre, atmósfera y tiempo de incubación. Una vez logrado el desarrollado bacteriano el uso de distintos agentes inactivantes tiene también mucha importancia y constituye un aspecto de discusión; mientras que la inactivación rápida con formalina tiene resultados variables de protección, la inactivación más lenta con timerosal es eficaz en todos los estudios que hasta la fecha se han realizado. Con respecto a los agentes adyuvantes tanto el hidróxido de aluminio como los aceites minerales brindan adecuada protección. Sin embargo es necesario aclarar que el aceite mineral de emulsión simple debe estar correctamente formulado pues se han descrito casos de protección ineficaz con desarrollo de severas reacciones colaterales en el punto de inoculación. En cambio, el aceite mineral de emulsión doble ha dado siempre buenos resultados. Con respecto a la duración de la inmunidad se ha descrito que la misma se prolonga hasta por 14 meses, tanto con adyuvantes de hidróxido de aluminio como oleosos.

Actualmente las vacunas comerciales son todas inactivadas y debido a que actualmente se admite que la serovariedad B debe ser incluida, puede asegurarse que todas son trivalentes. Los grandes laboratorios internacionales que elaboran estas vacunas las preparan con cepas estándar internacionalmente reconocidas. Estas vacunas internacionales se fabrican para ser usadas en diferentes países alrededor del mundo, basándose en el concepto de las variaciones locales no justifican la inversión de incluir cepas regionales o variar la composición de estas vacunas para adaptarlas a las necesidades de cada región o país. Estas grandes compañías aseguran que sus vacunas son siempre efectivas cuando son elaboradas con estas cepas internacionales y por lo tanto no se preocupan en incluir cepas regionales. Sin embargo tanto en Argentina como en Sudáfrica se han registrado y publicado evidencias concretas de fallas de protección. Quizás por este motivo en Argentina existen algunos laboratorios locales que comercializan bacterinas elaboradas con cepas regionales, las que tienen buena demanda y aceptación en el mercado local.

PREVENCIÓN DE CORIZA INFECCIOSA MEDIANTE VACUNACIÓN

Se recomienda vacunar con un nivel mínimo de antígeno de cien millones de bacterias por dosis (1×10^8), inoculadas por vía subcutánea detrás del cuello o intramuscular en la pechuga. Para pollas en recría es conveniente vacunar antes de las 20 semanas de vida, administrando dos dosis separadas por un intervalo de 3 a 4 semanas. Si es necesario se pueden vacunar los pollos parrilleros expuestos a brotes de coriza infecciosa con una sola dosis administrada a los 15 o 20 días de vida, lográndose protección adecuada hasta la faena. Vale la pena comentar que rutinariamente se emplean estas vacunas solamente en las gallinas ponedoras o reproductoras, siendo todavía poco frecuente el uso de las mismas en pollos parrilleros. Es necesario investigar el efecto de la aplicación de estas vacunas en los pollos parrilleros y sobre todo analizar su acción en el complejo de enfermedades respiratorias, síndrome de cabeza hinchada y sanidad en general. Para que esta vacuna se utilice en este tipo de aves debe ser económicamente accesible y por ello se debería investigar la protección en pollos parrilleros jóvenes por dosis más bajas que las normalmente se aplican en aves de mayor edad.

TRATAMIENTO

Varios antibióticos en diferentes combinaciones han sido utilizados para tratar la coriza infecciosa en los animales afectados. Entre los agentes terapéuticos más utilizados cabe citar la oxitetraciclina, eritromicina, quinolonas y estreptomycinina solas o en combinación con sulfonamidas y trimetoprima. Sin embargo, ninguno de estos agentes terapéuticos es bactericida y *H. paragallinarum* rápidamente genera resistencia a los antibióticos y quimioterápicos empleados. En las granjas afectadas por la enfermedad luego del tratamiento se mantienen aves portadoras y muchas veces son comunes las recaídas cuando el tratamiento con las drogas impide la inmunización de todas las aves. Por ello, en esta enfermedad es muy importante la prevención, ya que los tratamientos una vez instaurados no sólo no logran impedir la merma en la producción sino que muchas veces es el mismo tratamiento el que agrava la caída de la postura.

PREVENCIÓN MEDIANTE MEDIDAS DE MANEJO Y VACUNACIÓN

Dado que las aves portadoras que se han curado de la infección constituyen el reservorio de *H. paragallinarum* en la granja, es fundamental la compra de aves recriadas libres de la infección. Lo mejor es la cría de las pollitas BB con un adecuado plan sanitario que contemple la vacunación contra coriza infecciosa con bacterinas de reconocida eficacia y, si es posible, que contengan cepas regionales representativas de la zona. La cría y recría de las aves de reposición debe realizarse separadamente de las aves de mayor edad. En una granja que ha sufrido una infección el único modo de eliminar el agente completamente es despoblar los lotes afectados, puesto que las aves portadoras son una fuente constante de infección para las nuevas aves jóvenes susceptibles que ingresan al establecimiento. Además se deben desinfectar los galpones e implementos y mantener las instalaciones libres de aves durante por lo menos 2 a 3 semanas antes del ingreso de las pollas de reposición. Puesto que la despoblación de los criaderos afectados es una medida extrema, muchas veces de poca aplicación en la práctica, es muy recomen-

dable prevenir estos brotes mediante la aplicación de planes de vacunación adecuados implementados con vacunas eficaces.

Volver a: [Enfermedades de las aves](#)