

COMPORTAMIENTO PRODUCTIVO DE UN LOTE DE GALLINAS DE POSTURA VACUNADO CON LA CEPA ts11 DE *Mycoplasma gallisepticum*

Roxana Sánchez I.¹, Eliana Icochea D.², Antonio Ramírez V.¹, Néstor Falcón P.³
y Mónica Alba Ch.²

ABSTRACT

A field study was conducted to evaluate productive parameters in layers vaccinated with the *Mycoplasma gallisepticum* (MG) ts11 vaccine. A total of 9,065 free mycoplasma Hy Line Brown pullets were raised on a previously detected MG positive farm. The birds were divided in two groups and placed in two separated sections in the same farm. One group was vaccinated at four weeks of age and the other remained non vaccinated. Serum plate agglutination (SPA), haemagglutination inhibition (HI) and enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) were used to measure the serum antibody response after vaccination and field challenges. Polymerase chain reaction assay (PCR) and cultures were used to determine field challenges by mycoplasma and salmonella. Vaccinated birds laid 188 egg/hen (11.55 kg) whereas non-vaccinated ones laid 184 egg/hen (11.34 kg) over a 41-week period. Feed conversion was 2.57 and 2.62 for the vaccinated and the non-vaccinated group respectively ($p < 0.05$). There were significant differences in the productive parameters between vaccinated and non vaccinated group. The marginal economic analysis showed an economic profit of S/. 1.50 (US\$ 0.43) per housed hen. The birds were exposed to environmental heat stress and natural challenges by *Mycoplasma gallisepticum*, *Mycoplasma synoviae*, infectious bronchitis virus and *Salmonella enteritidis*. Despite the negative influence of these factors on the productive performance, the results of this study showed an economic profit and better productive results after vaccination with the ts11 strain.

Key words: *Mycoplasma gallisepticum*, vaccine, PCR, ts11

RESUMEN

Se evaluaron los parámetros productivos de un lote de gallinas de postura comercial vacunado con la cepa ts11 de *Mycoplasma gallisepticum* (MG). Se criaron 9,065 pollitas de postura comercial de la línea Hy Line Brown libres de micoplasma en una granja previamente identificada como positiva a MG. La mitad de las aves se vacunó con la cepa ts11 de MG a las cuatro semanas de edad y la otra mitad permaneció sin vacuna. Se midió la producción de huevos y se realizaron las pruebas de aglutinación en placa, inhibición de la hemoaglutinación y ELISA para evaluar el comportamiento serológico de los lotes como respuesta a la vacuna o a los desafíos de campo. Así mismo, se utilizó PCR y cultivos microbiológicos para determinar desafíos de campo por micoplasmas y salmonella. Sobre un periodo productivo de 41 semanas, las aves vacunadas produjeron

¹ Práctica privada

² Laboratorio de Patología Aviar, FMV-UNMSM

³ Laboratorio de Medicina Veterinaria Preventiva, FMV-UNMSM

188 huevos/ave (11.55 kg) y tuvieron un índice de conversión alimenticia de 2.57, mientras que las aves no vacunadas produjeron 184 huevos/ave (11.34 kg) y tuvieron un índice de conversión de 2.62 ($p < 0.05$). Se obtuvo un beneficio económico por la aplicación de la vacuna de S/. 1.50 (US\$ 0.43) por ave alojada. Las aves de ambos grupos fueron expuestas a severo estrés ambiental por calor y desafíos naturales de campo por *Mycoplasma gallisepticum*, *Mycoplasma synoviae*, virus de bronquitis infecciosa y *Salmonella enteritidis*; factores que afectaron el rendimiento del lote, pero que aún así permitió evidenciar el beneficio económico y productivo conseguido con la aplicación de la vacuna.

Palabras clave: *Mycoplasma gallisepticum*, vacuna, PCR, ts11

INTRODUCCIÓN

Las evidencias serológicas de infección por *Mycoplasma gallisepticum* en aves de postura comercial en diferentes países se han incrementado desde mediados de la década de los '80 (Spackman, 1993). En la zona de Chincha, Perú, a través de estudios más recientes, se ha estimado una seroprevalencia de 47 a 58% (Díaz, 1999; Gonzáles, 1998).

En los últimos años se han desarrollado vacunas vivas a partir de cepas suaves de *Mycoplasma gallisepticum*, una de ellas denominada cepa ts11. El uso de esta cepa en Australia, país de origen, redujo los problemas de infección cuando fue empleada en granjas con sistemas de crianza de múltiples edades (Whithear, 1996). Además, aves vacunadas con la cepa ts11, sobre un periodo de producción de 42 semanas, produjeron 10 huevos adicionales por ave alojada que aquellas no vacunadas (Whithear *et al.*, 1990a). Así mismo, se estableció la posibilidad de cesar la vacunación en forma sistemática y repoblar las granjas con aves libres de *Mycoplasma gallisepticum* para erradicar la infección (Whithear y Browning, 1994). En el Perú se ha implementando el uso de esta cepa en algunas granjas, pero no existen reportes sobre la efectividad de la vacuna frente a las cepas de desafío presentes en el campo bajo condiciones naturales.

El presente estudio tuvo el propósito de evaluar los parámetros productivos obtenidos para un lote de gallinas de postura comercial vacunado con la cepa ts11 de *Mycoplasma gallisepticum* en una granja con infección endémica por *Mycoplasma gallisepticum*.

MATERIALES Y MÉTODOS

Lugar de estudio

El trabajo se efectuó en una granja de postura comercial localizada en el distrito Nuevo Imperial de la provincia de Cañete, departamento de Lima, desde mayo de 1999 hasta agosto del 2000. Los lotes que se encontraban en la granja antes del inicio del trabajo fueron identificados como positivos a *Mycoplasma gallisepticum* mediante pruebas serológicas y de PCR.

Grupos experimentales

Se emplearon 9,065 pollitas de postura comercial, línea Hy-Line Brown, de un día de edad, libres de *Mycoplasma gallisepticum* (MG) y *Mycoplasma synoviae* (MS). Las aves se sometieron a una evaluación serológica mediante las pruebas de aglutinación en placa e inhibición de la hemaglutinación los días 1 y 21 de edad, y a análisis por PCR a los 25 días de edad (tres días antes de la vacunación), para comprobar que las aves se mantenían libres a MG.

Las aves fueron divididas en dos grupos experimentales. Un grupo vacunado con la cepa ts-11 de MG (4,442 aves) a las cuatro semanas de edad y un grupo control no vacunado (4,623 aves). Los grupos fueron ubicados en secciones separadas de un galpón de levante para crianza en piso.

El tiempo de crianza registrado para el presente estudio fue dividido en periodo de levante y periodo productivo. El periodo productivo, que coincidió con el inicio de la temporada de verano, se desarrolló en galpones de producción bajo el sistema de crianza en jaulas, cada una con capacidad para 7 aves, y su inicio se estableció a las 19 semanas de edad, en que comenzó a registrarse la producción de huevos, terminando a las 41 semanas de producción.

Se identificaron 30 aves por cada grupo experimental a partir de las cuales se tomaron muestras de sangre para el seguimiento serológico. Las muestras se colectaron de las 9 a las 59 semanas de edad, y fueron analizadas mediante las pruebas de aglutinación en placa e inhibición de la hemaglutinación (IH). La prueba de ELISA fue empleada para analizar las muestras de suero a partir de las 29 semanas. Las primeras 4 muestras fueron colectadas después de la vacunación a intervalos de 4-5 semanas, y a partir de la semana 25 postvacunación se hicieron a intervalos de 5-10 semanas.

Se efectuó la evaluación clínica de los lotes para determinar la presencia o ausencia de signos respiratorios, así como otros signos de enfermedad clínica que pudieran afectar los parámetros productivos. Análisis de ELISA, aglutinación en placa, reacción en cadena de la polimerasa (PCR) y cultivos microbiológicos fueron utilizados cuando fueron considerados indispensables para un diagnóstico definitivo de infección por *Mycoplasma synoviae*, virus de bronquitis infecciosa y salmonella.

El análisis por PCR se empleó como herramienta de diagnóstico definitivo para MG. Se realizó en muestras colectadas tres días antes de la aplicación de la vacunación con la cepa ts-11; y posteriormente, a las 36 y 40 semanas de edad de las aves, luego de observarse signos clínicos respiratorios manifiestos en las aves del grupo no vacunado.

Análisis de la información

Se determinó el número de huevos acumulados y kilogramos de huevos por gallina alojada, e índice de conversión alimenticia. Las diferencias entre grupos se analizaron por el método de diferencia de medias. Los resultados obtenidos en porcentajes de producción de huevos fueron comparados mediante el método de diferencia de proporciones (Daniel, 1995).

Se desarrolló un análisis económico marginal para cuantificar la ganancia de producción en kilos de huevos para el grupo de aves vacunado en comparación al grupo de aves no vacunado, considerando la diferencia de ingreso monetario por kilogramos de huevo producidos durante un periodo productivo de 41 semanas y el costo de inversión por vacunación (Sapag y Sapag, 1989).

RESULTADOS

En la Fig. 1 se muestran los porcentajes de producción de huevos por ave/día para los grupos experimentales y el estándar o esperado para la línea. El pico de producción se alcanzó a las 26 semanas en ambos grupos, registrándose 92.7% para el no vacunado y 92.8% para el vacunado. En el grupo vacunado se apreció una fuerte disminución en la producción de huevos (74.2%) en la semana 31, y en el grupo no vacunado (68.7%) en la semana 32, llegando al punto más bajo en ambos casos en la semana 43. Este descenso coincidió con un incremento de la temperatura ambiental y manifestaciones de signos respiratorios (ronquera y exudado nasal) casi im-

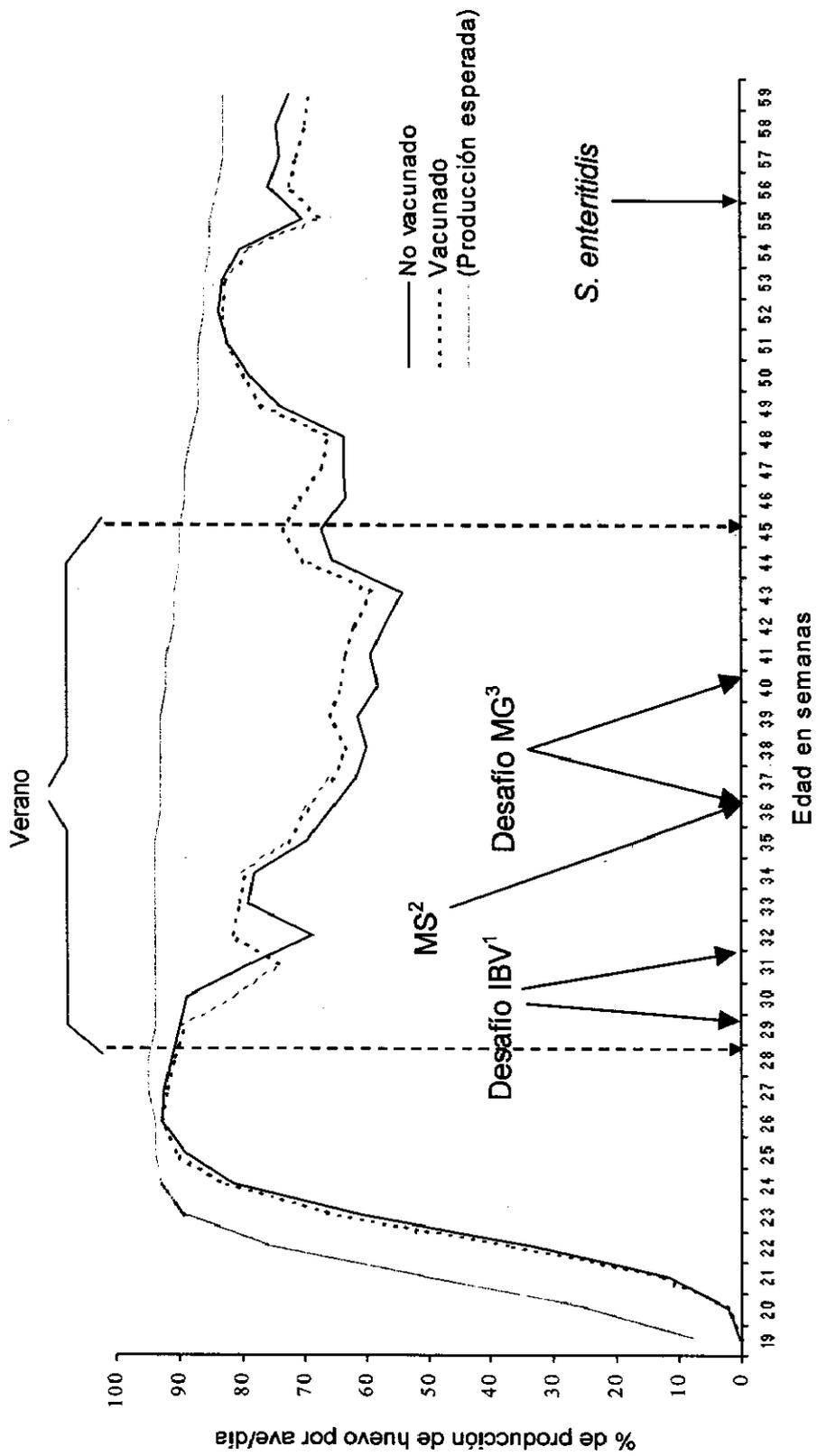


Figura 1. Producción porcentual de huevos por ave/día sometidas a desafío natural por agentes infecciosos y estrés calórico (1. Bronquitis infección viral; 2. *Mycoplasma synoviae*; 3. *Mycoplasma gallisepticum*)

Cuadro 1. Índice de conversión alimenticia y producción de huevos en gallinas de postura comercial vacunadas con la cepa ts11

Grupo	Índice de conversión	Total de huevos ¹	
		n	kg
Vacunados	2.57 ^a	188 ^a	11.55 ^a
No vacunados	2.62 ^b	184 ^b	11.34 ^b

a,b Valores con letras diferentes dentro de columnas son estadísticamente diferentes ($p < 0.05$)

Cuadro 2. Animales positivos¹ (%) a *Mycoplasma gallisepticum* mediante la prueba de aglutinación en placa, inhibición de la hemaglutinación y ELISA

Grupo ¹	Semanas postvacunación										
	-4	-1	5	10	14	19	25	32	42 ³	47 ³	55 ³
Aglutinación en placa ²											
- Vacunado	0	0	80	40	69	50	70	50	45	67	87
- No vacunado	0	0	0	0	0	0	0	17	83	100	97
Inhibición de la hemaglutinación ⁴											
- Vacunado	0	0	0	0	0	0	0	0	13	0	30
- No Vacunado	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3
ELISA ⁵											
- Vacunado	ND ⁶	ND	ND	ND	ND	ND	59	33	43	100	100
- No vacunado	ND	ND	ND	ND	ND	ND	5	23	32	93	93

¹ 30 aves por grupo

² Prueba de aglutinación en placa con Antígeno Intervet

³ Muestras post-desafío natural por *Mycoplasma gallisepticum*

⁴ Prueba de IH = Antígeno Spafas, 4 unidades hemaglutinantes. Un título mayor o igual a 1:80 fue considerado positivo (Kleven, 1998; Ewing *et al.*, 1996)

⁵ Prueba de ELISA = Kit KPL

⁶ No determinado

perceptibles en las aves vacunadas y leves en las no vacunadas, y con el diagnóstico de infección por virus de bronquitis infecciosa mediante ELISA en ambos grupos experimentales entre las 29 y 31 semanas.

El *Mycoplasma synoviae* se detectó en ambos grupos experimentales a las 36 semanas mediante la prueba de aglutinación en placa (100% de muestras positivas) y PCR. En la semana 40 se detectó ADN de

Mycoplasma gallisepticum en el grupo no vacunado, a través de la prueba de PCR.

Se apreció un proceso de recuperación no progresiva, que culminó a las 52 semanas cuando ambos grupos alcanzaron un porcentaje de producción por encima del 80%. Este nivel descendió nuevamente cuando las aves cursaron con enfermedad clínica caracterizada por un cuadro entérico infeccioso por *Salmonella enteritidis* (semana 55, Fig. 1).

Los resultados obtenidos en porcentaje de producción de huevos mostraron diferencias significativas ($p < 0.05$) a favor del grupo vacunado entre las 21 y 25 semanas, a las 32 semanas y entre las 35 y 49 semanas; y a favor del grupo no vacunado entre las 30 y 31 semanas, y entre las 54 y 59 semanas de edad. Las diferencias para el total del periodo productivo se muestran en el Cuadro 1.

El análisis económico marginal demostró que el grupo de aves vacunado generó un beneficio económico correspondiente a 6,666.67 nuevos soles.

Las pruebas de aglutinación en placa e IH no detectaron aves rectoras positivas en los grupos experimentales durante los muestreos realizados antes de la vacunación y el análisis por PCR no detectó ADN de *Mycoplasma gallisepticum* en ninguno de los grupos experimentales tres días antes de la aplicación de la cepa vacunal.

En la prueba de aglutinación en placa, el grupo vacunado tuvo el 80 y 87% de reactivos positivos en las semanas 5 y 55 post-vacunación (PV), respectivamente. Luego de la semana 5 y hasta la semana 42 PV la prueba indicó tendencia decreciente en seroconversión positiva, que posteriormente aumentó de forma progresiva hasta la semana 55 PV. El grupo de aves no vacunado mostró un incremento progresivo en seropositividad para MG desde la semana 32 PV (Cuadro 2).

La frecuencia de animales seropositivos en el transcurso del estudio obtenido a través de la prueba de aglutinación en placa, de inhibición de la hemaglutinación (IH) y de ELISA en los dos grupos experimentales se muestra en el Cuadro 2.

DISCUSIÓN

La disminución en el porcentaje productivo luego del pico de producción fue propiciada por el estrés calórico del verano y por la infección por virus de bronquitis infecciosa en ambos lotes. Aparentemente, esta infección se inició en el grupo de aves vacunadas y se diseminó al grupo no vacunado. La infección por *Salmonella enteritidis* estuvo involucrada en la caída del nivel productivo observado a las 55 semanas.

En el presente trabajo se obtuvo una diferencia de 4 huevos entre ambos grupos que corresponden a 0.26 kg de huevos adicionales para el grupo vacunado, cifra inferior a los 10 huevos adicionales obtenidos por Whithear *et al.* (1990a). Diversos autores (Yoder y Hopkins, 1985; Levisohn y Kleven, 2000) señalan que las caídas en la producción de huevos observadas en lotes positivos a infección por *Mycoplasma gallisepticum* son debidas a la interacción de un conjunto de factores que incluyen al micoplasma, virus respiratorios y condiciones medio ambientales adversas. Esta situación fue observada en el presente estudio cuando el inicio del periodo productivo coincidió con la estación de mayor temperatura ambiental (verano), y donde el efecto negativo de las altas temperaturas ambientales sobre el comportamiento productivo y la salud de las aves no pudo ser adecuadamente controlado en la granja. Esta condición se intensificó con las manifestaciones clínicas ocasionadas por los diferentes agentes infecciosos detectados en el presente estudio. Sin embargo, a pesar de las condiciones externas a las que estuvieron sometidas las aves, se obtuvo un beneficio económico

a favor del grupo de aves vacunado que justificó la aplicación de la cepa vacunal ts11.

La reacción serológica postvacunal fue eficientemente detectada en el grupo vacunado mediante la prueba de aglutinación en placa; y la observación de un alto porcentaje de aves rectoras positivas a las cinco semanas postvacunación concuerda con lo reportado por Kleven (1998).

Por los resultados obtenidos en PCR y serología se pudo comprobar que las aves permanecieron libres de la infección natural por MG hasta aproximadamente las 36 semanas. El porcentaje de aves rectoras positivas a MG obtenidos en la prueba de aglutinación en placa, previo al periodo considerado de desafío natural, puede ser atribuido a reacciones cruzadas por infección con *Mycoplasma synoviae* (Avakian y Kleven, 1990). Esta misma conclusión podría atribuirse al hallazgo de muestras rectoras positivas en ELISA previo al desafío, pese a que en otros reportes se indican que el ELISA-KPL no presenta reacciones cruzadas con sueros colectados de lotes positivos a *Mycoplasma synoviae* (Ewing *et al.*, 1996).

Por otro lado, reportes previos indican que aves vacunadas con la cepa ts11 pueden mostrar reacciones positivas en las pruebas serológicas de aglutinación en placa y ELISA, pero que la IH mantiene resultados negativos (Ley *et al.*, 1997) debido a su alta especificidad; motivo por el cual ha sido recomendado su uso para el diagnóstico de infección natural en lotes de aves vacunados con la cepa ts11 de MG.

En el presente estudio, el momento de desafío estuvo aparentemente reflejado en el aumento paulatino de aves rectoras positivas detectadas por las pruebas de aglutinación en placa y ELISA en ambos grupos experimentales (Whithear *et al.*, 1990b; Abd-El-Motelib y Kleven, 1993; Kleven *et al.*, 1998). La prueba de IH tardó en indicar la presencia de aves rectoras positivas en este último grupo probablemente debido a la poca

sensibilidad de dicha prueba (Lin y Kleven, 1982; Talkington *et al.*, 1985; Kleven, 1994).

CONCLUSIONES

- El lote de aves de postura comercial vacunado con la cepa ts11 de *Mycoplasma gallisepticum* obtuvo mejores resultados productivos ($p < 0.05$) comparado con un lote de aves no vacunado. Los resultados obtenidos fueron equivalentes a 4 huevos (260 g de masa de huevo) adicionales por ave alojada, y una diferencia de 5 puntos a favor del grupo vacunado en el índice de conversión alimenticia.
- Los índices productivos fueron afectados por la ocurrencia de infecciones de campo por *Mycoplasma gallisepticum*, *Mycoplasma synoviae*, bronquitis infecciosa y *Salmonella enteritidis*; así como por el efecto del estrés calórico al cual fueron expuestas las aves.
- Se obtuvo un beneficio económico, correspondiente a 6,666.67 nuevos soles para 4,442 aves vacunadas con la cepa ts11.

LITERATURA CITADA

1. **Abd-El-Motelib, T.Y.; S.H. Kleven. 1993.** A comparative study of *Mycoplasma gallisepticum* vaccines in young chickens. Avian Dis. 37: 981-987.
2. **Avakian, A.P.; S.H. Kleven. 1990.** The humoral immune response of chickens to *Mycoplasma gallisepticum* and potential causes of false positive reactions in avian mycoplasma serology. 7th Int. Congr. Int. Organ. Mycoplasma. p 500-512.
3. **Daniel, W.W. 1995.** Bioestadística: Base para el análisis de las ciencias de la salud. 5^a ed. p 269-280. Ed. Limusa. México DF.
4. **Díaz, E.G. 1999.** Prevalencia de *Mycoplasma gallisepticum* y *Myco-*

- plasma synoviae* en gallinas de postura comercial de la provincia de Chíncha. Tesis de Médico Veterinario, Facultad de Medicina Veterinaria, Univ. Nacional Mayor de San Marcos. Lima. 49 p.
5. **Ewing, M.L.; S.H. Kleven; M.B. Brown. 1996.** Comparison of enzyme-linked immunosorbent assay and hemagglutination inhibition for detection of antibody to *Mycoplasma gallisepticum* in commercial broiler, fair and exhibition, and experimentally infected birds. *Avian Dis.* 40: 13-22.
 6. **González, V.R. 1998.** Detección de *Mycoplasma gallisepticum* y *Mycoplasma synoviae* por cultivos microbiológicos y PCR en gallinas de postura comercial. Tesis de Bachiller. Facultad de Biología, Univ. Nacional Mayor de San Marcos. Lima. 80 p.
 7. **Kleven, S.H. 1994.** Situación actual de la micoplasmosis aviar. VIII Seminario Internacional de Patología Aviar. p 693-703.
 8. **Kleven, S.H. 1998.** Mycoplasmosis. En: *The Merck Veterinary Manual*, 8ª ed., p 1927-1929. S.E. Aiello (ed). Merck & Co. USA.
 9. **Kleven S.H. 1998.** Mycoplasmosis. En: *A laboratory manual for the isolation and identification of avian pathogens*. 4th ed. p 74-80. Am. Assoc. Avian Pathologists. USA.
 9. **Kleven S.H.; H.H. Fan; K.S. Turner. 1998.** Pen trial studies on the use of live vaccines to displace virulent *Mycoplasma gallisepticum* in chickens. *Avian Dis.* 42: 300-306.
 10. **Levisohn, S.; S.H. Kleven. 2000.** Avian mycoplasmosis (*Mycoplasma gallisepticum*). *Rev. Sci. Tech. Off. Int. Epiz.* 19: 425-442.
 11. **Ley, D.H.; J.M. Mc Laren; A.M. Miles; H.J. Barnes; S.H. Miller; G. Franz. 1997.** Transmissibility of live *Mycoplasma gallisepticum* vaccine strains ts11 and 6/85 from vaccinated layer pullets to sentinel poultry. *Avian Dis.* 41: 187-194.
 12. **Lin, M.Y.; S.H. Kleven. 1982.** Cross-immunity and antigenic relationships among five strains of *Mycoplasma gallisepticum* in young Leghorn chickens. *Avian Dis.* 26: 496-507.
 13. **Sapag, N.; R. Sapag. 1989.** Preparación y evaluación de proyectos. 2ª ed. p 359-379. McGraw-Hill Latinoamericana. México DF.
 14. **Spackman, D. 1993.** Resurgence of *Mycoplasma gallisepticum* worldwide. *Proc. 42th West. Poult. Dis. Conf., California.* p 75-76.
 15. **Talkington, F.D.; S.H. Kleven; J. Brown. 1985.** An enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of antibodies to *Mycoplasma gallisepticum* in experimentally infected chickens. *Avian Dis.* 29: 53-70.
 16. **Whithear, K.G.; G. Browning. 1994.** Mycoplasmas and the management of broiler breeders. *Proc. 43th West. Poult. Dis. Conf., USA.* p 59-60.
 17. **Whithear, K.G. 1996.** Control of avian mycoplasmosis by vaccination. *Rev. Sci. Tech. Off. Int. Epiz.* 15: 1527-1553.
 18. **Whithear, K.G.; G. Soeripto; E. Ghiocas. 1990a.** Efficacy of the ts11 attenuated *Mycoplasma gallisepticum* vaccine strain. *IOM lett.* 1: 361-362.
 19. **Whithear, K.G.; G. Soeripto; K.E. Harrigan; E. Ghiocas. 1990b.** Immunogenicity of a temperature sensitive mutant *Mycoplasma gallisepticum* vaccine. *Aust. Vet. J.* 67: 168-174.
 20. **Yoder, H.W. Jr.; S.R. Hopkins. 1985.** Efficacy of experimental inactivated *Mycoplasma gallisepticum* oil-emulsion bacterin in egg-layer chickens. *Avian Dis.* 29: 322-334.