



FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS Y
BIOLÓGICAS

CARRERA PROFESIONAL DE MEDICINA
VETERINARIA Y ZOOTECNIA

“IMPORTANCIA DE *Gallibacterium anatis* EN *Gallus gallus*”

Trabajo de Investigación para optar
el grado académico de: Bachiller en
Medicina Veterinaria y Zootecnia

Presentado por:

Alejandra Ojeda Vásquez

Asesor:

Siever Miguel Morales Cauti

Lima-Perú

2020

ÍNDICE GENERAL

1. RESUMEN.....	1
2. INTRODUCCIÓN.....	2
3. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA.....	3
3.1. <i>Gallibacterium anatis</i>	3
3.1.1. Taxonomía.....	3
3.1.2. Factores de virulencia.....	4
3.1.3. Resistencia a antibióticos.....	6
3.2. Gallibacteriosis.....	7
3.2.1. Epidemiología.....	7
3.2.2. Transmisión.....	8
3.2.3. Hospederos.....	9
3.2.4. Patogénesis.....	9
3.2.5. Signos clínicos.....	10
3.2.6. Lesiones macroscópicas.....	10
3.2.7. Lesiones microscópicas.....	10
3.2.8. Métodos de diagnóstico.....	11
3.2.8.1. Diagnóstico clínico.....	11
3.2.8.2. Diagnóstico laboratorial.....	11
3.2.8.2.1. Diagnóstico microbiológico.....	12
3.2.8.2.2. Características bioquímicas.....	12
3.2.8.2.3. Reacción en cadena de la polimerasa (PCR).....	13
3.3. Impacto en la producción avícola.....	13

3.4. Control y tratamiento.....	14
4. CONCLUSIONES.....	15
5. BIBLIOGRAFÍA.....	16

1. RESUMEN

El *Gallibacterium anatis* es un cocobacilo gramnegativo perteneciente a la familia Pasteurellaceae que forma parte de la microbiota normal del aparato respiratorio y reproductor de las aves comerciales en distintos países como Grecia, Dinamarca, Bélgica, Suecia, Noruega, Inglaterra, China, Japón India, Egipto, Nigeria, Marruecos, Irán, Turquía, Taiwán, Siria, México, Perú, Estados Unidos, Colombia, Australia. En los últimos años, esta bacteria ha emergido como un patógeno oportunista con la capacidad de dañar a distintos órganos, siendo el más afectado el aparato reproductor, provocando la disminución de la producción de huevos en un 2 a 4% aproximadamente y el incremento de la mortalidad de las aves. El mal diagnóstico de la enfermedad y el uso inadecuado de antibióticos desembocan en el fracaso del tratamiento y la resistencia a múltiples antibióticos. Actualmente, la información acerca de los factores de virulencia, patogénesis y transmisión del *G. anatis* es escasa, lo que impide el control adecuado de la enfermedad y permite una incidencia del 48 al 100% en establecimientos con un nivel bajo de bioseguridad.

2. INTRODUCCIÓN

En el sector avícola, las enfermedades con mayor importancia son las que comprometen al aparato respiratorio y reproductor (Chávez et al., 2017), debido a que afectan directamente al rendimiento de las aves. Estas enfermedades se pueden clasificar en virales y bacterianas. Entre los virus destacan *Paramoxovirus*, *Coronavirus*, *Herpesvirus*, *Metapneumovirus*, mientras que en las bacterias tenemos al *Avibacterium paragallinarum*, *Ornithobacterium rhinotracheale*, *Pasteurella multocida*, *Mycoplasma gallisepticum*, *Escherichia coli* y *Gallibacterium anatis* entre las más notorias (Blanco, 2019; Velázquez, 2017). Estos microorganismos no solo incrementan la mortalidad y disminuyen la ganancia de peso, sino que también perjudican directa o indirectamente la producción y calidad de los huevos, ya que las enfermedades respiratorias, como las que provocan aerosaculitis, eventualmente afectarán al ovario y oviducto (Roberts, Souillard, & Bertin, 2011). Como resultado, las pérdidas económicas y el aumento de los costos de producción por tratamientos son considerables.

El *Gallibacterium anatis* es una bacteria que forma parte de la microbiota del tracto respiratorio y reproductivo de aves domésticas y silvestres. Por lo tanto, es considerado un patógeno oportunista que compromete principalmente a estos dos sistemas y que puede diseminarse al resto del organismo a través de la sangre, provocando signos clínicos y lesiones inespecíficas que fácilmente se confunden con otras enfermedades, lo que resulta en un mal diagnóstico clínico, tratamiento ineficiente, disminución de la susceptibilidad de esta bacteria a distintos antibióticos (Mendoza, 2014). Además, aún no se conoce lo suficiente sobre la biología del *G. anatis*, lo que representa un gran problema a la hora de desarrollar medidas de control contra este patógeno.

El objetivo del presente trabajo es describir las características principales del *Gallibacterium anatis*, de los métodos de diagnóstico más eficaces y del impacto de esta bacteria en la industria avícola para generar conciencia sobre la importancia de esta enfermedad en las aves comerciales.

3. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

3.1. *Gallibacterium anatis*

Es una bacteria gramnegativa, cocobacilo, encapsulado, no esporulado, inmóvil, anaerobio facultativo y mesófilo (Lawal et al., 2018). Es considerada como patógeno oportunista, pues forma parte de la microbiota del tracto respiratorio superior y el tracto reproductivo de aves silvestres y domésticas (El-adawy, Bocklisch, Neubauer, Hafez, & Hotzel, 2018; Singh et al., 2016).

3.1.1. Taxonomía

Filo: Proteobacteria

Clase: Gammaproteobacteria

Orden: Pasteurellales

Familia: Pasteurellaceae

Género: *Gallibacterium*

El género *Gallibacterium* comprende 4 especies: *G. anatis*, *G. melopsittaci* sp. nov., *G. trehalosifermentans* sp. nov. y *G. salpingitidis* sp. nov. (El-adawy et al., 2018).

El *G. anatis* se puede subdividir en dos biovars: *haemolytica* y no hemolítica o *anatis* (Blanco, 2019; Singh et al., 2016). La variedad hemolítica del *G. anatis* es comúnmente parte de la microbiota del aparato respiratorio y tracto reproductivo de las aves (Bodil M. Kristensen, Frees, & Bojesen, 2011).

3.1.2. Factores de virulencia

Los factores de virulencia son los componentes que le dan al organismo la capacidad de causar enfermedad. Están involucrados en varios aspectos como la colonización, nutrición, evasión del sistema inmune e inmunosupresión del hospedero (Persson & Bojesen, 2015). En el caso del *G. anatis*, se han logrado identificar unos pocos factores de virulencia, como las fimbrias F17-like, las vesículas de membrana externa, la toxina GtxA, las metaloproteasas y la capacidad de la bacteria para formar biofilm.

La capacidad de adherirse a las células epiteliales del hospedero y a superficies inertes está dada por las fimbrias F17-like que se expanden en la superficie de la bacteria. Las fimbrias son codificadas por un grupo de 4 genes en el que se encuentra el gen *flfG* que es responsable de la adhesión. La adhesina se ubica en el extremo de la fimbria y se encarga del reconocimiento y unión al receptor. Estas fimbrias se unen a los receptores que poseen N-acetil-D-glucosamina en la superficie de la célula del hospedero (Persson & Bojesen, 2015).

Otro elemento importante son las vesículas de membrana externa, las cuales se forman por gemación de la membrana externa (Blanco, 2019). Por lo tanto, están constituidas principalmente por elementos de la membrana externa como proteínas de la membrana, lipopolisacáridos (LPS) e incluso se ha encontrado componentes de origen citoplasmático como ADN (Persson & Bojesen, 2015; Singh et al., 2016). Si bien su función no se ha determinado, se especula que pueden estar relacionadas con la adhesión y colonización, hemaglutinación, modulación de la respuesta inmune del hospedero, eliminación de sustancias antibacterianas, además de actuar como objetivo de los fagocitos (Blanco, 2019; Persson & Bojesen, 2015; Singh et al., 2016).

Una de las características más importantes para identificar al *Gallibacterium anatis* biovar *haemolytica* y que la diferencia de las otras tres especies que comprende el

género *Gallibacterium*, es su capacidad para producir hemólisis beta alrededor de la colonia bacteriana cuando se le cultiva sobre agar sangre (Kristensen et al., 2011) debido a la producción de la toxina GtxA (toxina A de *Gallibacterium*) que posee actividad hemolítica en gran variedad de hospederos y efecto leucotóxico en los macrófagos de los pollos (Persson & Bojesen, 2015). La mayoría de los miembros de la familia *Pasteurellaceae* expresan toxinas RTX que poseen actividad leucotóxica y hemolítica (Frey & Kuhnert, 2002). La toxina RTX específica del *G. anatis*, GtxA, posee dos dominios: C-terminal y N-terminal. El dominio C-terminal es responsable de la función hemolítica, mientras que la función del N-terminal no es del todo clara, pero es necesaria para la actividad hemolítica completa y la actividad leucotóxica (Kristensen, Frees, & Bojesen, 2010; Persson & Bojesen, 2015; S. Singh et al., 2016). El dominio N-terminal, por sí solo, no tiene función citolítica; sin embargo, su ausencia atenúa la actividad hemolítica de la toxina e inhibe la actividad leucotóxica, dando a entender que existe un efecto sinérgico entre ambos dominios (Kristensen et al., 2010).

Además de las toxinas, el *G. anatis* produce metaloproteasas que están involucradas en la modulación de la respuesta inmune del hospedero, puesto que actúa sobre inmunoglobulinas y las proteínas del sistema de complemento (Persson & Bojesen, 2015). Estas metaloproteasas tienen la capacidad de degradar las IgG, por lo que, participan en la evasión del sistema (García-Gómez et al., 2005). También se cree realizan otras funciones importantes como la colonización, adquisición de nutrientes e invasión a la circulación sistémica (Persson & Bojesen, 2015).

La presencia de una cápsula delgada en el *G. anatis* es considerada otro factor de virulencia, pues se cree que participa en la interacción con las células, la adherencia y la evasión del sistema inmunológico, aunque su función exacta aún es desconocida (Narasinakuppe Krishnegowda et al., 2020; Persson & Bojesen, 2015). La cápsula se

puede observar mediante un microscopio electrónico de transmisión en los cultivos primarios, mas no en los subcultivos (Persson & Bojesen, 2015).

A pesar de que su relación con la patogénesis no es del todo clara, la formación de biofilm también es considerado como otro factor de virulencia que posee el *Gallibacterium anatis*, el cual está relacionado con infecciones crónicas, el incremento de la resistencia a los antibióticos y la capacidad de adherirse a superficies inertes y tejido vivo (Persson & Bojesen, 2015). El *Gallibacterium anatis* puede ser clasificado en cepas que no producen biofilm y cepas que producen biofilm débil, moderado y fuerte (Johnson et al., 2013).

3.1.3. Resistencia a antibióticos

Se ha reportado la existencia de cepas del *Gallibacterium anatis* resistentes a una gran variedad de antibióticos, lo cual está relacionado con su uso indebido en la avicultura. Entre los antibióticos ineficaces contra esta bacteria se encuentran; la novobiocina, tilosina, clindamicina, penicilina, ciprofloxacina, enrofloxacin, doxiciclina, espectinomycin, sulfatrimetoprim, lincomycin, ampicilina, oxitetracycline, norfloxacin, florfenicol, cefalexin, amoxicilina y eritromycin, (Ataei et al., 2017; Chávez et al., 2017; Lawal et al., 2018; Mendoza, 2014; Singh et al., 2016); sin embargo, la resistencia y susceptibilidad ante estos fármacos es variable. Mientras que en el estudio realizado por Mendoza (2014) se reportó que las cepas del *Gallibacterium anatis* analizadas mostraban resistencia a la enrofloxacin y al sulfatrimetoprim, El-adawy et al. (2018) observó que las muestras del *Gallibacterium anatis* que aisló fueron susceptibles a los mismos fármacos. Por otra parte, Briones (2018) aisló muestras del *G. anatis* que mostraban resistencia a la oxitetracycline, al florfenicol, la amoxicilina, la doxiciclina y trimetoprim/sulfametoxazol.

3.2. Gallibacteriosis

3.2.1. Epidemiología

El *Gallibacterium anatis* es un microorganismo de distribución mundial, pues ha sido reportado en distintos países, principalmente en pollos de carne y gallinas ponedoras. En Grecia, la bacteria mostró un 15.8% de prevalencia (19/120) (El-adawy et al., 2018); Dinamarca, un 46% (374/810) (Bojesen, Nielsen, & Bisgaard, 2003); Bélgica, 5% de prevalencia en terneras (10/200) (Driessche et al., 2020); China, 36.5% (66/181) (Huangfu et al., 2012); Egipto, 16.6% (20/120 parvadas) (Elbestawy et al., 2018); Nigeria, 24.67% (37/150) (Lawal et al., 2018); Marruecos, 46.1% (24/52) (Nassik et al., 2019); Turquía, 10% (20/200) (Yaman & Sahan Yapicier, 2019); México, 3.8% (23/600) (Chávez et al., 2017); Perú, 48% (12/25) (Castillo, Koga, Alvarado, Tinoco, & Fernández, 2014); Estados Unidos, 28% (84/300) (Jones, Thornton, Zhang, & Mael, 2013), Taiwán, Noruega, Siria, Inglaterra, Suecia, Australia, Japón, India, Irán y Colombia (Ataei et al., 2017; Singh et al., 2018; Singh et al., 2016) . En el estudio realizado por Mendoza (2014) en nuestro país, se aisló al *G. anatis* en pollos de carne, gallinas de postura, gallinas reproductoras y gallos de pelea con enfermedades respiratorias en los departamentos de La Libertad, Lima, Ica, Arequipa, Madre de Dios y Ucayali. Las dos ciudades con mayor número de aislamientos fueron Lima (64%) y La Libertad (28%). Del mismo modo, Castillo et al. (2014) obtuvo la mayor cantidad de aislamientos del *G. anatis* en Lima. Esto está relacionado con el nivel de producción de ambas regiones, ya que Lima produce el 53.7% de la carne de pollo que se consume en el país y el 26.9% de los huevos comerciales, mientras que La Libertad genera el 17.1% y 18.5% respectivamente (Ministerio de Agricultura y Riego, 2019). Además, la poca distancia que separa a las granjas, facilita la diseminación de la bacteria mediante el viento, aves silvestres y/o roedores (Mendoza, 2014).

La presencia del *G. anatis* en aves de crianza comercial está también ligada al nivel de bioseguridad de la granja. Las instalaciones con bajos niveles de bioseguridad, como en la crianza extensiva, muestran una incidencia del 48 al 100% (Bojesen et al., 2003).

A pesar de ser una bacteria casi exclusivamente de las aves, se ha reportado el aislamiento del *G. anatis* en un humano y en terneros. En Francia se dio a conocer un caso de bacteriemia causada por el *Gallibacterium anatis* biovar *anatis* en una mujer de 26 con el sistema inmune comprometido (Aubin, Haloun, Treilhaud, Reynaud, & Corvec, 2013). Por otro lado, en Bélgica, se aislaron cepas del *Gallibacterium anatis* biovar *anatis* en 10 terneros con bronconeumonía que no respondían a la terapia con antibióticos (Driessche et al., 2020).

3.2.2. Transmisión

Para el *Gallibacterium. anatis*, la principal vía de transmisión es la horizontal; sin embargo, su aislamiento en tráqueas de aves de 4 días de edad y en las yemas de los huevos son indicios de una posible transmisión vertical por vía trans-ovárica antes de la formación de la cáscara del huevo o atravesando dicha cáscara hasta llegar al embrión (Huangfu et al., 2012; Singh et al., 2016). Se ha demostrado la capacidad del *G. anatis* para atravesar la cáscara del huevo e infectar al embrión; por lo tanto, la mala calidad de la cáscara podría ser un factor de riesgo para la infección (Wang, Pors, Olsen, & Bojesen, 2018). La disminución en la calidad puede estar ligada a la edad avanzada del ave o a la deposición de cutícula en el huevo (Wang et al., 2018).

Los machos también podrían tener un papel importante en la infección por vía horizontal entre aves adultas, pues se logró aislar a la bacteria en los testículos y epidídimo de gallos después de una semana después de ser infectados por vía intranasal experimentalmente (Paudel, Liebhart, Aurich, Hess, & Hess, 2014).

3.2.3. Hospederos

El *Gallibacterium anatis* forma parte de la microbiota del tracto respiratorio y reproductivo de las aves y suele ser aislada de aves comerciales como pollos; sin embargo, también se puede encontrar en patos, gansos, gallinas de Guinea, pavos, faisanes, perdices, garcilla bueyera, psitácidos, garzas, periquitos australianos, etc. (Mendoza, 2014; Persson & Bojesen, 2015; Singh et al., 2016).

3.2.4. Patogénesis

Debido al constante aislamiento del *G. anatis* en las vías respiratorias superiores y la cloaca, es evidente que forma parte de la microbiota de las aves (Singh et al., 2016). Esto da a entender que existen factores que generan inmunosupresión en las aves y que permiten al *G. anatis* causar lesiones; entre estos se encuentran las infecciones simultáneas, desbalances hormonales, la edad y cambio de clima (Bojesen et al., 2004; Chávez et al., 2017; Persson & Bojesen, 2015; Singh et al., 2016), ya que se sabe que el estrés provoca la supresión de la inmunidad humoral y celular en las aves de corral (Tsiouris, Georgopoulou, Batzios, Pappaioannou, & Ducatelle, 2015).

Actualmente la patogénesis del *G. anatis* sigue siendo estudiada mediante aves infectadas experimentalmente por instilación nasal utilizando distintas cepas. Debido a la vía utilizada para la infección, la tráquea, los sacos aéreos y los pulmones son los primeros en manifestar lesiones a los 2 días post-infección (Zepeda et al., 2010). Aproximadamente a los 7 días post-infección, el daño se extiende a otros órganos como el corazón, el hígado y el peritoneo (Paudel, Liebhart, Hess, & Hess, 2014; Zepeda et al., 2010). A medida que el cuadro va avanzando, la infección alcanza el aparato reproductor. Allí se pueden observar daños en los folículos ováricos, así como la deposición de huevos y material caseoso en la cavidad abdominal (Paudel, Liebhart, Hess, et al., 2014). En el caso de los machos, la epididimitis se manifiesta entre los 7 a 28 días post infección

aproximadamente. La densidad del semen, la motilidad de los espermatozoides y la integridad de su membrana disminuyen significativamente al mismo tiempo que la cantidad de espermatozoides con defectos morfológicos aumenta (Paudel, Liebhart, Aurich, et al., 2014).

A pesar de que la infección fue por vía intranasal, las lesiones se presentaban también en otros órganos, lo que sugiere la diseminación de la bacteria a través de la sangre generando una septicemia (Zepeda et al., 2010).

3.2.5. Signos clínicos

El ave manifiesta signos clínicos inespecíficos como depresión, conjuntivitis, edema facial, dificultad respiratoria, secreción nasal, cianosis, fiebre, anorexia, diarrea, postración, disminución de la producción de huevos y mortalidad variable. (Blanco, 2019; Mendoza, 2014; Mendoza, Rodríguez, Koga, & Alvarado, 2014; Mendoza, Zavaleta, et al., 2014; Singh et al., 2016).

3.2.6. Lesiones macroscópicas

Al realizar la necropsia se puede observar congestión en los senos infraorbitarios y la tráquea, aerosaculitis, pericarditis, hemorragia en el miocardio, necrosis multifocal en el hígado, hepatomegalia, esplenomegalia, peritonitis, inflamación renal, foliculitis, hemorragia folicular, atrofia ovárica, ruptura folicular, deposición de huevos y material caseoso en la cavidad abdominal y salpingitis (Mendoza, 2014; Paudel, Liebhart, Hess, et al., 2014).

3.2.7. Lesiones microscópicas

En las aves infectadas con el *Gallibacterium anatis* se puede observar necrosis e infiltración linfocítica en el subepitelio traqueal, inflamación de los sacos aéreos con exudado de fibrina, heterófilos y linfocitos. En los pulmones se observa neumonía intersticial, hiperplasia de células caliciformes y de los linfonódulos bronquiales (Zepeda et al., 2010).

El hígado presenta infiltración linfocítica perivascular multifocal con acumulación de heterófilos, necrosis multifocal de los hepatocitos e hiperplasia de los conductos biliares (Paudel, Liebhart, Hess, et al., 2014; Zepeda et al., 2010).

En las hembras, la foliculitis ovárica se caracteriza por la infiltración intrafolicular y/o perifolicular de heterófilos y células mononucleares (Paudel, Liebhart, Hess, et al., 2014). Los machos presentan agregación de células mononucleares en el intersticio y alrededor de los túbulos del epidídimo (Paudel, Liebhart, Aurich, et al., 2014).

3.2.8. Métodos de diagnóstico

3.2.8.1. Diagnóstico clínico

El diagnóstico clínico del *G. anatis* resulta bastante complicado, ya que, además de carecer de signos y lesiones patognomónicos, las manifestaciones clínicas son diversas y puede ser confundidas con otras patologías que afectan el aparato respiratorio y reproductor como la enfermedad de Newcastle, el cólera aviar, influenza aviar (Jones et al., 2013; Singh et al., 2016), colibacilosis (Neubauer, De Souza-Pilz, Bojesen, Bisgaard, & Hess, 2009) y coriza infecciosa (Velázquez, 2017). Por ello, las pruebas microbiológicas y técnicas de biología molecular son los métodos más eficaces para llegar al diagnóstico final.

3.2.8.2. Diagnóstico laboratorial

El diagnóstico del *G. anatis* mediante pruebas de laboratorio es el medio más adecuado para llegar al diagnóstico correcto. La toma de muestra para aislar a esta bacteria se realiza con el ave viva o durante la necropsia mediante el hisopado del tracto reproductor (oviducto y ovario), cloaca, tráquea y cavidad abdominal (Ataei et al., 2017). Además de estos tejidos, también se puede obtener muestras a partir hisopados en los senos infraorbitales, pulmones, sacos aéreos e improntas de hígado y bazo (Castillo et al., 2014). Los órganos con mayor tasa de detección son la tráquea y los ovarios, ya que estos

son los principales lugares afectados en aves infectadas natural o experimentalmente (Huangfu et al., 2012).

3.2.8.2.1. Diagnóstico microbiológico

El principal medio de cultivo para comenzar con la identificación del *G. anatis* es el agar sangre. Los hisopados o las improntas son cultivadas en placas con agar sangre de ovino al 5% (Mendoza, 2014), sangre de bovino al 5 o 10% (Chávez et al., 2017; Elbestawy et al., 2018; Wang, et al., 2016) o la sangre de caballos, conejos, cerdos o pollos (Persson & Bojesen, 2015). Otro medio de cultivo comúnmente utilizado es el agar MacConkey (Castillo et al., 2014; El-adawy et al., 2018; Mendoza, 2014). Una vez sembrados se incuban a 37°C por un período de 24 a 48 horas en condiciones aeróbicas (Chávez et al., 2017; El-adawy et al., 2018; Mendoza, 2014).

Las colonias del *G. anatis* se caracterizan por tener un diámetro de 1 a 2 mm, tienen forma circular y convexa, su color es grisáceo y semitransparente con la superficie lisa y brillante (Christensen, Bisgaard, Bojesen, Mutters, & Olsen, 2003). Al ser cultivadas en agar sangre generan hemólisis beta, mientras que en agar MacConkey se observan colonias de color rosa (Christensen et al., 2003; El-adawy et al., 2018).

3.2.8.2.2. Características bioquímicas

Las cepas del *Gallibacterium anatis* son positivas a las pruebas de oxidasa, catalasa, fosfatasa, alanina aminopeptidasa y reduce nitratos. La reacción en el medio Hugh–Leifson con (+) D-glucosa es fermentativa y forma ácido a partir de glicerol, (-) D-ribosa, (+) D-xilosa, (-) D-manitol, (-) D-fructosa, (+) D-galactosa, (+) D-glucosa, (-) D-manosa, sacarosa y rafinosa sin formación de gas. Muestra resultados negativos en el citrato de Simmons, la prueba de Voges–Proskauer a 37°C, H₂S/Hierro triple azúcar (TSI), ureasa, indol, crecimiento en presencia de KCN (Christensen et al., 2003).

3.2.8.2.3. Reacción en cadena de la polimerasa (PCR)

La reacción en cadena de la polimerasa o PCR es uno de los métodos de diagnóstico más utilizados para determinar la presencia de *G. anatis* debido su especificidad.

El diagnóstico del *G. anatis* se puede realizarse mediante la detección del gen *gtxA* de la toxina *GtxA* mediante dos pares distintos de primers para amplificar el N-terminal y el RTX terminal. Los primers 1002F (5'-TGCGCAAGTGCTAAATGAAG-3') y 1927R (5'-GGATAATCGTTGCGCTTTG-3') corresponden al N-terminal, mientras que los primers *rtxA3368F* (5'-CAAACCTAATTCAATCGGATG-3') y *rtxA4625R* (5'-TGCTTCAATAATTTTCCATTTT-3') se utilizan para amplificar el RTX terminal (Kristensen et al., 2011). Para la amplificación del gen *gtxA* se efectúan 35 ciclos en el termociclador que inician a 94°C por 4 minutos, seguido de la desnaturalización a 94°C por 30 segundos, alineación a 51°C por 30 segundos, extensión a 70°C por 1 minuto y 45 segundos y la extensión final a 70°C por 7 minutos (Paudel, Alispahic, Liebhart, Hess, & Hess, 2013).

El gen de la subunidad B del ADN girasa (*gyrB*) es utilizado para detectar al *Gallibacterium anatis* mediante la técnica de PCR cuantitativa en tiempo real. Para amplificar este gen se usa un primer directo (5'-CGATTGTGTCCGTAAAGTGC), el primer inverso (5'-TGCAAACGCTCACACCAACTG) y la sonda TaqMan (5'-CTGGTTTCTTCCGAAGTGAAAAGTGTAGTGGA). Las condiciones para amplificar el gen son: desnaturalización inicial a 95°C por 10 minutos, 40 ciclos de desnaturalización a 95°C por 15 segundos, alineación a 56°C por 30 segundos y extensión a 72°C por 30 segundos (Wang et al., 2016).

3.3. Impacto en la producción avícola

Las enfermedades que afectan el aparato respiratorio y el aparato reproductor son las de mayor importancia en la avicultura a nivel mundial, puesto que afectan

directamente el rendimiento de las aves y generan pérdidas económicas por la mortalidad y los costos de tratamiento.

Las aves de producción, sobre todo los pollos, son susceptibles a padecer del síndrome respiratorio (SRA), el cual es producido por gran variedad de virus y bacterias. El *Gallibacterium anatis* y *Pasteurella multocida* forman parte de los agentes etiológicos que se hayan con mayor frecuencia y causan del 15-20% de mortalidad (Castillo et al., 2014).

Además del incremento en la mortalidad, la producción y calidad de los huevos también está comprometida. Se estableció que el *Gallibacterium anatis* altera el tamaño y forma del huevo y provoca la disminución en la producción del 2 al 4 % (Chávez et al., 2017). La reducción de la cantidad de huevos puestos se puede comenzar a evidenciar luego de una semana post-infección aproximadamente, llegando a su punto más bajo en la tercera semana (Paudel, Liebhart, Hess, et al., 2014).

La industria avícola está siendo afectada por bacterias multidrogorresistentes debido al uso indebido de antibióticos para prevenir infecciones, mejorar la producción y como promotores de crecimiento (Agyare, Boamah, Zumbi, & Osei, 2018). El *Gallibacterium anatis* forma parte de las bacterias que desarrollaron resistencia a gran variedad de antibióticos, lo que resulta en el fracaso de los tratamientos, el aumento de los costos de producción y serias dificultades para controlar a esta y otras bacterias (Chávez et al., 2017; Mendoza, 2014).

3.4. Control y tratamiento

La terapia con antibióticos es el único medio disponible para combatir la infección causada por el *G. anatis*. Es por ello que, una vez identificada la bacteria, se debe realizar el antibiograma para determinar cuál es el antibiótico más adecuado, ya que la susceptibilidad antimicrobiana difiere entre cepas. Además, es importante respetar las

medidas de bioseguridad y el calendario de vacunación con el fin de evitar infecciones que comprometan el sistema inmune de las aves o agraven las lesiones causadas por el *G. anatis* (Krishnegowda et al., 2020).

La vacunación como método de control y prevención contra la infección por el *G. anatis* aún está en desarrollo. Actualmente, las proteínas GtxA-N, FlfA y Gab_1309 han demostrado tener potencial inmunogénico y son posibles candidatos para el desarrollo de vacunas (Bager et al., 2014; Pors, Skjærning, Flachs, & Bojesen, 2016). Asimismo, las vesículas de membrana externa pueden ser usados como adyuvantes y componentes para futuras vacunas, pues en combinación la proteína FlfA protegen contra las lesiones causadas por el *G. anatis* (Persson, Pors, Thøfner, & Bojesen, 2018).

4. CONCLUSIONES

A nivel mundial, el *G. anatis* biovar hemolítica está emergiendo como un patógeno importante en aves, sobre todo en las comerciales, generando problemas tanto económicos como de bienestar en estos animales. Sin embargo, se conoce muy poco sobre la biología de esta bacteria, lo que complica el diagnóstico, tratamiento y medidas de prevención.

La toma de muestras para el diagnóstico del *Gallibacterium anatis* debe incluir el hisopado de la tráquea y el tracto reproductor, puesto que en estos tejidos es donde más se aísla a este microorganismo.

El método de diagnóstico más utilizado para el diagnóstico del *G. anatis* es PCR. El diagnóstico clínico no es eficiente en estos casos puesto que no hay presencia de signos patognomónicos y las lesiones pueden confundirse con las causadas por otros microorganismos, lo que culmina en un tratamiento inadecuado.

La resistencia del *G. anatis* a distintos antibióticos puede estar relacionada con el uso desmedido de estos durante la crianza de las aves y representa un obstáculo para el

control de este patógeno. Por ello, es imprescindible conocer cuales antibióticos son efectivos contra la bacteria mediante un antibiograma antes de establecer el tratamiento.

5. BIBLIOGRAFÍA

- Agyare, C., Boamah, V., Zumbi, C., & Osei, F. (2018). Antibiotic Use in Poultry Production and Its Effects on Bacterial Resistance [Uso de antibióticos en la producción avícola y sus efectos sobre la resistencia bacteriana]. *IntechOpen*.
<https://doi.org/10.5772/intechopen.79371>
- Ataei, S., Bojesen, A. M., Amininajafi, F., Ranjbar, M. M., Banani, M., Afkhamnia, M., & Goodarzi, H. (2017). First report of *Gallibacterium* isolation from layer chickens in Iran [Primer informe del aislamiento de *Gallibacterium* de gallinas ponedoras en Irán]. *Archives of Razi Institute*, 72(2), 123–128.
- Aubin, G. G., Haloun, A., Treilhaud, M., Reynaud, A., & Corvec, S. (2013). *Gallibacterium anatis* Bacteremia in a human [*Gallibacterium anatis* bacteriemia en un ser humano]. *Journal of Clinical Microbiology*, 51(11), 3897–3899.
<https://doi.org/10.1128/JCM.01638-13>
- Bager, R. J., Kudirkiene, E., Piedade, I., Seemann, T., Nielsen, T. K., Pors, S. E., & Bojesen, A. M. (2014). In silico prediction of *Gallibacterium anatis* pan-immunogens [Predicción in silico de paninmunógenos de *Gallibacterium anatis*]. *Veterinary Research*, 45(1), 1–12.
- Blanco, J. (2019). *Estudio retrospectivo de Gallibacterium anatis en gallinas ponedoras y pollos de engorde, durante el epríodo enero 2013*. Universidad de San Carlos de Guatemala.
- Bojesen, A. M., Nielsen, O. L., Christensen, J. P., & Bisgaard, M. (2004). In vivo

studies of *Gallibacterium anatis* infection in chickens [Estudios in vivo de infección por *Gallibacterium anatis* en pollos]. *Avian Pathology*, 33(2), 145–152.
<https://doi.org/10.1080/03079450310001652059>

Bojesen, A. M., Nielsen, S. S., & Bisgaard, M. (2003). Prevalence and transmission of haemolytic *Gallibacterium* species in chicken production systems with different biosecurity levels [Prevalencia y transmisión de especies hemolíticas de *Gallibacterium* en sistemas de producción de pollos con diferentes niveles de bioseguridad]. *Avian Pathology*, 32(5), 503–510.
<https://doi.org/10.1080/0307945031000154107>

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. *Revista de Investigaciones Veterinarias Del Perú*, 25(4), 516–522.

Chávez, F., Barrios, R., Xóchihua, J., Chávez, J., León, J., Yanes, M., & Escalante, J. (2017). Resistencia antimicrobiana de *Gallibacterium anatis* aisladas de gallinas de postura comercial en Sonora, México. *Revista Mexicana de Ciencias Pecuarias*, 8(3), 305–312.

Christensen, H., Bisgaard, M., Bojesen, A. M., Mutters, R., & Olsen, J. E. (2003). Genetic relationships among 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 anatis* gen. nov. [Relaciones genéticas entre aislados de aves clasificados como *Pasteurella haemolytica*, *Actinobacillus salpingitidis* o *Pasteurella anatis* con propuesta de *Gallibacterium anatis* gen. nov., comb. nov. y

descripción de genomospecies adicionales dentro de *Gallibacterium anatis* gen. nov.]. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 53(1), 275–287. <https://doi.org/10.1099/ijms.0.02330-0>

Driessche, L. Van, Vanneste, K., Bogaerts, B., De Keersmaecker, S. C. J., Roosens, N. H., Haesebrouck, F., & Boyen, F. (2020). Isolation of Drug-Resistant *Gallibacterium anatis* from Calves with Unresponsive Bronchopneumonia, Belgium [Aislamiento de *Gallibacterium anatis* resistente a fármacos de terneros con bronconeumonía no sensible, Bélgica]. *Emerging Infectious Diseases*, 26(4), 721–730.

El-adawy, H., Bocklisch, H., Neubauer, H., Hafez, H. M., & Hotzel, H. (2018). Identification , differentiation and antibiotic susceptibility of *Gallibacterium* isolates from diseased poultry [Identificación, diferenciación y susceptibilidad a antibióticos de aislados de *Gallibacterium* de aves enfermas]. *Irish Veterinary Journal*, 71(5), 1–10. <https://doi.org/10.1186/s13620-018-0116-2>

Elbestawy, A. R., Ellakany, H. F., El-hamid, H. S. A., Bekheet, A. A., Mataried, N. E., Nasr, S. M., & Amarin, N. M. (2018). Isolation, characterization, and antibiotic sensitivity assessment of *Gallibacterium anatis* biovar *haemolytica*, from diseased Egyptian chicken flocks during the years 2013 and 2015 [Aislamiento, caracterización y evaluación de la sensibilidad a los antibióticos de *Gallibacterium anatis* biovar *haemolytica*, de aves de corral egipcias enfermas durante los años 2013 y 2015]. *Poultry Science*, 97(5), 1519–1525. <https://doi.org/10.3382/ps/pey007>

Frey, J., & Kuhnert, P. (2002). RTX toxins in Pasteurellaceae. *International Journal of Medical Microbiology*, 292(3–4), 149–158.

- García-Gómez, E., Vaca, S., Pérez-Méndez, A., Ibarra-Caballero, J., Pérez-Márquez, V., Tenorio, V. R., & Negrete-Abascal, E. (2005). *Gallibacterium anatis* secreted metalloproteases degrade chicken IgG [Las metaloproteasas secretadas por *Gallibacterium anatis* degradan la IgG de pollo]. *Avian Pathology*, *34*(5), 426–429. <https://doi.org/10.1080/03079450500267866>
- Huangfu, H., Zhao, J., Yang, X., Chen, L., Chang, H., Wang, X., & Wang, C. (2012). Development and Preliminary Application of a Quantitative PCR Assay for Detecting gtxA-Containing *Gallibacterium* Species in Chickens [Desarrollo y aplicación preliminar de un ensayo cuantitativo de PCR para detectar especies de *Gallibacterium* que contienen gtxA en pollos]. *Avian Diseases*, *56*(2), 315–320.
- Johnson, T. J., Danzeisen, J. L., Trampel, D., Nolan, L. K., Seemann, T., Bager, R., & Bojesen, A. M. (2013). Genome Analysis and Phylogenetic Relatedness of *Gallibacterium anatis* Strains from Poultry [Análisis del genoma y relación filogenética de cepas de *Gallibacterium anatis* de aves de corral]. *Journal of Animal and Veterinary Advances*, *8*(1).
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0054844>
- Jones, K. H., Thornton, J. K., Zhang, Y., & Mael, M. J. (2013). A 5-year retrospective report of *Gallibacterium anatis* and *Pasteurella multocida* isolates from chickens in Mississippi [Un informe retrospectivo de 5 años de *Gallibacterium anatis* y *Pasteurella multocida* aislados de pollos en Mississippi]. *Poultry Science*, *92*(12), 3166–3171. <https://doi.org/10.3382/ps.2013-03321>
- Krishnegowda, D. N., Dhama, K., Mariappan, A., Munuswamy, P., Yattoo, M. I., Tiwari, R., & Reddy, M. R. (2020). Etiology, epidemiology, pathology, and advances in diagnosis, vaccine development, and treatment of *Gallibacterium*

anatis infection in poultry: a review [Etiología, epidemiología, patología y avances en el diagnóstico, desarrollo de vacunas y tratamiento de la infección por *Gallibacterium anatis* en aves de corral: una revisión]. *Veterinary Quarterly*, 40(1), 16–34. <https://doi.org/10.1080/01652176.2020.1712495>

Kristensen, Bodil M., Frees, D., & Bojesen, A. M. (2011). Expression and secretion of the RTX-toxin GtxA among members of the genus *Gallibacterium* [Expresión y secreción de la toxina RTX GtxA entre miembros del género *Gallibacterium*]. *Veterinary Microbiology*, 153(1–2), 116–123. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2011.05.019>

Kristensen, Bodil Marie, Frees, D., & Bojesen, A. M. (2010). GtxA from *Gallibacterium anatis*, a cytolytic RTX-toxin with a novel domain organisation [GtxA de *Gallibacterium anatis*, una toxina RTX citolítica con una organización de dominio novedosa]. *Veterinary Research*, 41(3), 25. <https://doi.org/10.1051/vetres/2009073>

Lawal, J., Ndahi, J., Dauda, J., Gazali, Y., Gadzama, J., & Aliyu, A. (2018). Survey of *Gallibacterium anatis* and Its Antimicrobial Susceptibility Pattern in Village Chickens (*Gallus gallus domesticus*) in Maiduguri, North-eastern Nigeria [Estudio de *Gallibacterium anatis* y su patrón de susceptibilidad antimicrobiana en gallinas de aldea (*Gallus gallus domesticus*) en Maiduguri, noreste de Nigeria]. *International Journal of Veterinary and Animal Medicine*, 1(1), 1–7.

Mendoza, K. (2014). *Variabilidad genética de cepas de gallibacterium anatis aisladas de aves comerciales con infecciones respiratorias*. Universidad Nacional Mayor de San Marcos.

Mendoza, K., Rodríguez, J., Koga, Y., & Alvarado, A. (2015). *Gallibacterium anatis*:

Un patógeno aviar importante. *Actualidad Avipecuaria*.

Mendoza, K., Zavaleta, A., Koga, Y., Rodríguez, J., Alvarado, A., & Tinoco, R. (2014).

Variabilidad Genética de Cepas de *Gallibacterium anatis* Aisladas de Aves Comerciales del Perú con Infecciones Respiratorias. *Revista de Investigaciones Veterinarias Del Perú*, 25(2), 233–244.

Neubauer, C., De Souza-Pilz, M., Bojesen, A., Bisgaard, M., & Hess, M. (2009). Tissue

distribution of haemolytic *Gallibacterium anatis* isolates in laying birds with reproductive disorders [Distribución tisular de aislados hemolíticos de *Gallibacterium anatis* en aves ponedoras con trastornos reproductivos]. *Avian Pathology*, 38(1), 1–7. <https://doi.org/10.1080/03079450802577848>

Paudel, S., Alispahic, M., Liebhart, D., Hess, M., & Hess, C. (2013). Assessing

pathogenicity of *Gallibacterium anatis* in a natural infection model: the respiratory and reproductive tracts of chickens are targets for bacterial colonization [Evaluación de la patogenicidad de *Gallibacterium anatis* en un modelo de infección natural: las vías respiratorias y reproductivas de los pollos son objetivos para la colonización bacteriana]. *Avian Pathology*, 42(6), 1–9. <https://doi.org/10.1080/03079457.2013.843160>

Paudel, S., Liebhart, D., Aurich, C., Hess, M., & Hess, C. (2014). Pathogenesis of

Gallibacterium anatis in a natural infection model fulfils Koch's postulates: 2. Epididymitis and decreased semen quality are the predominant effects in specific pathogen free cockerels [Patogénesis de *Gallibacterium anatis* en un modelo de infección natural cumple con los postulados de Koch: 2. La epididimitis y la disminución de la calidad del semen son los efectos predominantes en gallos libres de patógenos específicos]. *Avian Pathology*, 43(6), 529–534.

<https://doi.org/10.1080/03079457.2014.967176>

- Paudel, S., Liebhart, D., Hess, M., & Hess, C. (2014). Pathogenesis of *Gallibacterium anatis* in a natural infection model fulfils Koch ' s postulates : 1 . Folliculitis and drop in egg production are the predominant effects in specific pathogen free layers [La patogénesis de *Gallibacterium anatis* en un modelo de infección natural cumple con los postulados de Koch: 1. La foliculitis y la caída en la producción de huevos son los efectos predominantes en capas libres de patógenos específicos]. *Avian Pathology*, *43*(5), 443–449. <https://doi.org/10.1080/03079457.2014.955782>
- Persson, G., & Bojesen, A. M. (2015). Bacterial determinants of importance in the virulence of *Gallibacterium anatis* in poultry [Determinantes bacterianos de importancia en la virulencia de *Gallibacterium anatis* en aves de corral]. *Veterinary Research*, *46*(1), 57. <https://doi.org/10.1186/s13567-015-0206-z>
- Pors, S. E., Skjerning, R. B., Flachs, E. M., & Bojesen, A. M. (2016). Recombinant proteins from *Gallibacterium anatis* induces partial protection against heterologous challenge in egg - laying hens [Las proteínas recombinantes de *Gallibacterium anatis* inducen una protección parcial contra el desafío heterólogo en gallinas ponedoras]. *Veterinary Research*, *47*(1). <https://doi.org/10.1186/s13567-016-0320-6>
- Roberts, J. R., Souillard, R., & Bertin, J. (2011). *Avian diseases which affect egg production and quality*. (Y. Nys, M. Bain, & F. Van Immerseel, Eds.), *Improving the Safety and Quality of Eggs and Egg Products* (2nd ed.). Woodhead Publishing Limited. <https://doi.org/10.1016/B978-1-84569-754-9.50016-4>
- Singh, B., Singh, S., Munuswamy, P., Kumar, A., Sinha, D., & Kumar, V. (2018). *Gallibacterium anatis* outbreaks in domestic birds in North India: Antimicrobial

and herbal drug sensitivity of *Avibacterium* and *Gallibacterium* isolates [Brotos de *Gallibacterium anatis* en aves domésticas en el norte de la India: sensibilidad a los medicamentos antimicrobianos y herbales de los aislados de *Avibacterium* y *Gallibacterium*]. *Indian Journal of Poultry Science*, 53(2), 225.

<https://doi.org/10.5958/0974-8180.2018.00043.0>

Singh, S., Singh, B., Sinha, D., Kumar, V., Vadhana, P., Bhardwaj, M., & Dubey, S.

(2016). *Gallibacterium anatis*: An Emerging Pathogen of Poultry Birds and Domiciled Birds [*Gallibacterium anatis*: un patógeno emergente de aves de corral y aves domesticadas]. *Veterinary Science & Technology*, 7(3).

<https://doi.org/10.4172/2157-7579.1000324>

Tsiouris, V., Georgopoulou, I., Batzios, C., Pappaioannou, N., & Ducatelle, R. (2015).

The effect of cold stress on the pathogenesis of necrotic enteritis in broiler chicks [El efecto del estrés por frío en la patogénesis de la enteritis necrótica en pollos de engorde]. *Avian Pathology*, 44(6), 430–435.

<https://doi.org/10.1080/03079457.2015.1083094>

Velázquez, J. (2017). *Estudio genético e inmunogénico comparativo de fimbrias F17 en Gallibacterium anatis y Avibacterium paragallinarum*. Benemérita Universidad Autónoma de Puebla.

Wang, C., Pors, S. E., Olsen, R. H., & Bojesen, A. M. (2018). Transmission and

pathogenicity of *Gallibacterium anatis* and *Escherichia coli* in embryonated eggs.

Veterinary Microbiology, 217, 76–81. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2018.03.005>

Wang, C., Robles, F., Ramirez, S., Riber, A., & Bojesen, A. M. (2016). Culture-

independent identification and quantification of *Gallibacterium anatis* (*G. anatis*)

by real-time quantitative PCR [Identificación y cuantificación independiente del

cultivo de *Gallibacterium anatis* (*G. anatis*) mediante PCR cuantitativa en tiempo real.]. *Avian Pathology*, 45(5). <https://doi.org/10.1080/03079457.2016.1184743>

Yaman, S., & Sahan Yapicier, O. (2019). Diagnosis of *Gallibacterium Anatis* in Layers: First Report in Turkey [Diagnóstico de *Gallibacterium Anatis* en capas: primer informe en Turquía]. *Brazilian Journal of Poultry Science*, 21(3).
<https://doi.org/https://doi.org/10.1590/1806-9061-2019-1019>

Zepeda, V., Calderón-Apodaca, N. L., Paasch, M. L., Martín, P. G., Paredes, D. A., Ramírez-Apolinar, S., & Soriano-Vargas, E. (2010). Histopathologic Findings in Chickens Experimentally Infected with *Gallibacterium anatis* by Nasal Instillation [Hallazgos histopatológicos en pollos infectados experimentalmente con *Gallibacterium anatis* por instilación nasal]. *Avian Diseases*, 54(4), 1306–1309.