



Informe Identificación de *Ornithobacterium rhinotracheale* (ORT) y metapneumovirus aviar (MA). Caracterización epidemiológica en Chile

Alvaro González Rubio, MV¹, alvaro.gonzalez@sag.gob.cl
Alejandro Rivera Salazar, MV², alejandro.rivera@fao.org

Agradecimientos

Los autores agradecen el trabajo realizado por los MVA de las empresas agrupadas en la Asociación de Productores Avícolas de Chile A.G. y la Asociación de Médicos Veterinarios Especialistas en Aves, a los MVO de las direcciones regionales y sectoriales del SAG en las regiones de Arica y Parinacota, Valparaíso, Metropolitana y O'Higgins, y del Subdepartamento de Laboratorio y Estación Cuarentenaria Pecuaria SAG, Lo Aguirre.

Índice

Resumen	2
1. Introducción	2
1.1. <i>Ornithobacterium rhinotracheale</i> (ORT)	2
1.2. Metapneumovirus aviar (MA).....	3
2. Objetivos y desarrollo de la investigación epidemiológica	5
2.1. Objetivos	5
2.2. Desarrollo.....	5
3. Material y método	6
3.1. Planteles de aves.....	6
3.2. Muestras y diseño de muestreo.....	6
3.3. Laboratorios diagnósticos y técnicas de análisis.....	7
3.4. Fuentes de información y encuesta.....	7
3.5. Análisis de datos.....	7
4. Resultados.....	8
4.1. <i>Ornithobacterium rhinotracheale</i>	8
4.2. Metapneumovirus aviar	11
5. Conclusiones	14
6. Bibliografía.....	15
Anexo 1. Resultados positivos a ORT en Chile, 2008	¡Error! Marcador no definido.
Anexo 2. Resultados positivos a MA en reproductoras broilers, Chile, 2009	20

¹ Subdepartamento de Vigilancia Epidemiológica, División de Protección Pecuaria, Servicio Agrícola y Ganadero.

² Actualmente consultor FAO; en la época de realización de este estudio pertenecía al mismo Subdepartamento mencionado en ¹.

Resumen

En diciembre de 2008 se diagnosticó la presencia de *Ornithobacterium rhinotracheale* (ORT) en diferentes planteles comerciales de pollo y pavo, ubicados en las regiones de Arica y Parinacota, de Valparaíso, Metropolitana y de O'Higgins, tras un muestreo dirigido realizado por APA, AMEVEA y SAG en noviembre de 2008. La confirmación diagnóstica de los aislados se realizó en laboratorios nacionales (Centrovét, SAG) y extranjeros (Universidad Libre de Berlín, NVSL, en Ames, Iowa, Estados Unidos, Holanda, R&D Service Lab, Intervet e Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie, en Italia). Las muestras de tórculas traqueales fueron analizadas mediante PCR y cultivo bacteriológico. La confirmación de la identificación del ORT serotipo A se realizó el 19 de marzo de 2009.

Evidencia de la presencia de metapneumovirus aviar (MA) se detectó desde tórculas traqueales provenientes de granjas de reproductoras broilers y pollos de engorde, y de un plantel comercial de carne de ave, ubicadas en las regiones de Valparaíso y O'Higgins, colectadas en noviembre de 2008 y enero de 2009. La confirmación diagnóstica se realizó en laboratorios de Alemania (Universidad Libre de Berlín) e Italia (Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie). El virus fue tipificado como tipo A.

La investigación epidemiológica se inició en julio de 2008, a partir de la comunicación de los MVA de la empresa afectada, al SAG Regional de la Región de O'Higgins, respecto la presentación de un alza de títulos serológicos de MA en reproductoras broilers, las cuales presentaban una baja de postura en torno al 15% y baja calidad de cáscara, lo que generó la sospecha clínica de un cuadro de rinotraqueitis aviar (ART).

Entre septiembre de 2008 y marzo de 2009 se realizaron acciones de muestreo, vigilancia, censo poblacional, encuestas epidemiológicas y análisis de laboratorio, con el fin de determinar la situación sanitaria del país respecto de estos agentes, en todas las empresas productoras de carne. El presente informe resume la información colectada, depurada y analizada; se concluyó que se ha modificado la condición sanitaria de Chile respecto de estos agentes, desde ausente para ORT y con sospecha para el MA a presente para ambos agentes infecciosos, sólo en pollos y en algunas zonas del territorio nacional. Hasta la fecha del estudio, el MA no ha sido identificado en pavos en el país.

1. Introducción

Las infecciones respiratorias son la principal causa de enfermedades en la producción avícola y, normalmente, se acompañan de pérdidas económicas importantes. Varios patógenos han sido asociados a la etiología de cuadros respiratorios, ya sea como agentes primarios o secundarios, como, por ejemplo, *Ornithobacterium rhinotracheale* (ORT) y metapneumovirus aviar (MA) reconocidos por ocasionar problemas respiratorios en las poblaciones avícolas. Éstos, sumados a los agentes causantes de la bronquitis infecciosa y de la mycoplasmosis, junto con virus inmunosupresores, pueden generar un gran impacto sanitario y productivo.

1.1. *Ornithobacterium rhinotracheale* (ORT)

Ornithobacterium rhinotracheale ha sido asociado con cuadros respiratorios, aumento de la mortalidad, atraso en el crecimiento y baja en la producción de huevos en las aves de corral.

El ORT es una bacteria gram negativa, pleomórfica, con forma de vara e inmóvil (Rahimi y Banani, 2007). Las cepas del agente han sido caracterizadas por serotipificación y se han reconocido 18 serotipos, aunque en el 97% de los casos clínicos los serotipos A, B, D y E son los más frecuentes. De éstos, el A es mayoritario, lo que muestra que existe poca diversidad en los aislados de campo, especialmente en broilers, a pesar de la variedad de serotipos reconocidos (Ozbey *et al*, 2005).

Los signos clínicos incluyen tos, disnea, traqueitis y descarga ocular. A la necropsia puede observarse una neumonía exudativa, pleuritis, aerosaculitis, pericarditis y sinusitis. La bacteria ha sido aislada desde pollos, pavos, codornices, patos, gansos, avestruces, faisanes, palomas y gallinetas, entre otras aves de corral. El ORT ha sido reportado en Estados Unidos, Alemania, Sudáfrica, Países Bajos, Francia, Israel, Bélgica, Hungría, Japón, Reino Unido, Turquía, Canadá, Jordania, Brasil e Irán (Machado, 2000; Wageck *et al*, 2002; Murthy *et al*, 2008; Kilic *et al*, 2009). El ORT no es una enfermedad de la Lista de la OIE.

1.2. Metapneumovirus aviar (MA)

Metapneumovirus aviar es un paramixovirus, ARN de cadena sencilla, no segmentado, altamente pleomórfico que tiene en su superficie proyecciones de 13-15 nm de longitud; no posee actividad hemoaglutinante y está genéticamente relacionado con los virus humanos y los respiratorios bovinos (Collins and Gough, 1988; Ling and Pringle, 1988; Shin *et al.*, 2000). Las cepas de este agente han sido divididas en 4 subgrupos (A, B, C y D) sobre la base de su antigenicidad y diversidad de secuencia genética. Los subgrupos A y B son distintos pero relacionados estrechamente y se encuentran en la mayoría de las producciones avícolas. El subgrupo A predomina en América mientras que el B es más frecuente en Europa el C se ha detectado en Estados Unidos y Francia y el D está restringido a un número pequeño de aislados en Francia (Saif *et al.*, 2003; Gharaibeh and Algharaibeh, 2007; Ling *et al.*, 2008).

Por otra parte, la nomenclatura de las enfermedades respiratorias en las aves domésticas y en los pavos asociadas con MA (antiguamente conocidos como *Pneumovirus aviar*) ha resultado ser confusa. Los metapneumovirus aviares ocasionan la rinotraqueitis aviar (ART) en gallinas y pollos; las mismas cepas pueden no causar problemas clínicos o producir una infección respiratoria suave que puede derivar en el síndrome de cabeza hinchada (SCH), un enfermedad respiratoria alta con edema facial e inflamación de los senos infraorbitarios, la cual es de etiología multifactorial y este virus es un agente más de los que pueden presentarse para ocasionar el cuadro clínico.

En pavos la infección con MA origina la rinotraqueitis del pavo (TRT), la cual origina problemas respiratorios que pueden derivar en el SCH cuando hay infecciones secundarias por ORT, *Pasteurella*, *Bordetella*, clamidiosis o *Escherischia coli* (Cavanagh *et al.*, 1999; Bennet *et al.*, 2005; Van Loock *et al.*, 2006).

El SCH fue descrito por primera vez a fines de los años 70 en África del Sur, posteriormente en Europa y otras partes del mundo, fundamentado principalmente en las evidencias serológicas ya que el aislamiento viral se ha reportado en pocas oportunidades. El virus se difunde rápidamente por contacto entre las parvadas.

El MA fue reconocido en las aves reproductoras y posteriormente en las ponedoras comerciales. En las aves reproductoras el virus se relaciona con la caída súbita de la

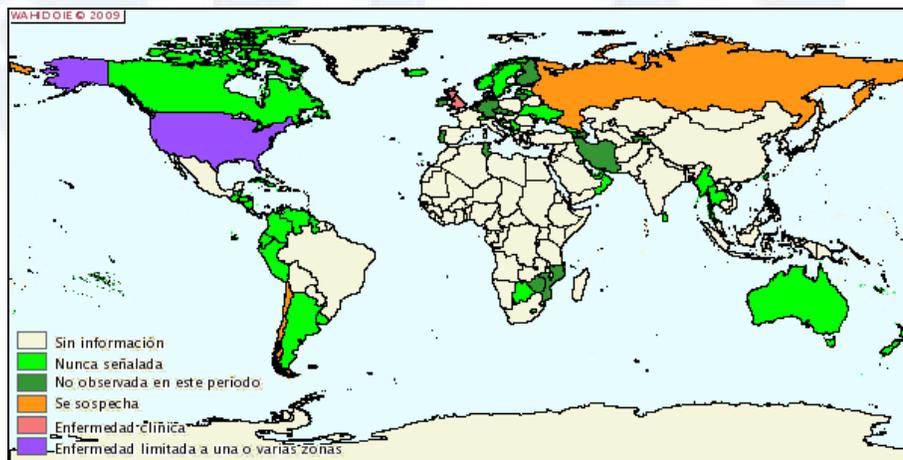
postura, pérdida del color de la cáscara de los huevos y con signos pseudo-nerviosos originados por la infección secundaria del oído interno (Khehra and Jones, 1999; Marien *et al.*, 2005; Tiwari *et al.*, 2006).

La presencia del MA produce una alta morbilidad en lotes de pollos de engorda que puede llegar al 100%, con una mortalidad de 2 a 4% que aumenta hasta 30% cuando hay infecciones secundarias bacterianas o virales; genera pérdidas económicas a la industria asociadas a la menor ganancia de peso, menor número de aves a faena y por los decomisos en la planta de faenamiento debido a aerosaculitis (Cook *et al.*, 2000; Goyal *et al.*, 2000; Al-Ankari *et al.*, 2001).

El MA se transmite por contacto directo. Las descargas nasales, aguas contaminadas, personal y vehículos contaminados pueden contribuir a la diseminación del virus. La transmisión por vía aérea, no ha sido demostrada y no existen evidencias claras sobre la transmisión vertical del agente infeccioso (Fernández, 2002).

El MA ha sido reportado como TRT en Estados Unidos y Europa y se sospecha de su presencia en Rusia, de acuerdo a lo informado por la OIE (Van de Zande *et al.*, 1999; Hafez *et al.*, 2000; OIE, 2009a) (Mapa 1). La mayoría de los países de América Latina nunca ha señalado la presencia de la enfermedad del TRT a esta organización, sin embargo, hay publicaciones de su detección en Brasil y México y autorizaciones para el uso de vacunas inactivadas y vivas contra TRT en Bolivia, Brasil, Ecuador, Paraguay, Perú y Venezuela (Rivera *et al.*, 1999; D'Arce *et al.*, 2005; Verdi, 2007; Chacon *et al.*, 2007; Martínez-Bautista *et al.*, 2008).

Mapa 1. Distribución mundial de rinotraqueitis del pavo (TRT) según la OIE, 2009a.



Parte de esta situación se puede explicar porque la OIE incluye al TRT dentro de las enfermedades de la Lista del [Capítulo 1.2.](#) del Código Sanitario de los Animales Terrestres; sin embargo, no hace mención del MA, situación que puede estar dada por las dificultades experimentadas en el tiempo en su clasificación y con los diferentes cuadros clínicos a los cuales se asocia el agente. Esta situación puede ser homologada a la pasteurelisis causada por *Pasteurella multocida* (la cual sólo es notificable a la OIE en su presentación clínica aguda), el cólera aviar, o como en los casos por virus de la

enfermedad de Newcastle, cuando se presenta en su forma velogénica viscerotrópica o mesogénica, pero no en otras formas de patogenicidad menor. Por otra parte, el TRT no se encuentra incluido en la Lista de enfermedades importantes para el comercio internacional (Volumen 2 del [Código Sanitario de los Animales Terrestres](#)) (OIE, 2009b).

2. Objetivos y desarrollo de la investigación epidemiológica

2.1. Objetivos

La investigación epidemiológica desarrollada buscó identificar el ORT y MA en Chile, su distribución geográfica, la presentación epidemiológica, clínica y patológica así como su impacto productivo, a fin de elaborar la estrategia de control más adecuada.

2.2. Desarrollo

El 7 de julio de 2008 el encargado regional pecuario (ERP) SAG de la Región de O'Higgins comunicó que un médico veterinario acreditado (MVA) de una empresa de broilers informó de un aumento en la prevalencia serológica de 13,6 a 29,9% para MA en todos los sectores de reproductoras broilers, entre los meses de abril y junio de ese año. La situación fue muy diferente a la observada en años anteriores, ya que estos títulos sexológicos se presentaron asociados a una baja de postura (15% como promedio) lo que generó la sospecha de la presencia de un cuadro de rinoatraqueitis aviar (ART).

En esa oportunidad, las reproductoras afectadas además de la baja de postura no presentaron problemas respiratorios, el porcentaje de nacimientos no estaba disminuido y no había reportes asociados a problemas sanitarios ni productivos en los lotes de pollo de engorda.

En agosto el SAG, junto con la empresa afectada, desarrolló un Protocolo de Estudio con el fin de identificar el agente mediante PCR y aislamiento viral en el Laboratorio y Estación Cuarentenaria Pecuaría SAG, en Lo Aguirre. El aislamiento viral fue negativo, luego de seis pasajes en células de cultivo de órganos traqueales (TOC) de pollo.

En octubre de 2008, la Asociación de Productores Avícolas de Chile A.G. (APA), la Asociación de Médicos Veterinarios Especialistas en Aves de Chile (AMEVEA) y el SAG acordaron el muestreo de toda la industria de la carne de ave, con el fin de detectar los agentes causales de ORT y ART, cuyos análisis de laboratorio se realizaron en el SAG y en el laboratorio del Dr. H. Hafez, en la Universidad Libre de Berlín, Alemania. Durante el mes siguiente se colectaron tórculas traqueales que fueron enviadas a Alemania para análisis molecular para ORT y MA. Las muestras fueron enviadas el 15 de diciembre y recibidas tres días después en Alemania. Posteriormente, el 5 de marzo de 2009, éstas se enviaron a Holanda para confirmación del serotipo del ORT.

En noviembre de 2008, MVA de la empresa de broilers, en conjunto con el médico veterinario oficial (MVO) de la Oficina SAG Rancagua, realizaron un muestreo en broilers para ART, y enviaron las muestras de tórculas traqueales al Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie, en Italia, a cargo de la Dra. I. Capua.

El 20 de enero de 2009 la empresa originalmente afectada y una empresa de broilers de la Región Metropolitana realizaron un nuevo muestreo para MA en reproductoras broilers

y pollo de engorde, y las muestras se enviaron a Alemania e Italia; una contra muestra quedó en el Laboratorio del SAG, en Lo Aguirre.

El 24 de febrero de ese año, se desarrolló y envió una encuesta epidemiológica a los planteles para ORT y ART.

3. Material y método

3.1. Planteles de aves

Se muestreó el 100% de los planteles de comerciales de carne del país para ORT y MA, los cuales representan el 98% de la producción de carne de ave (pollo y pavo). La distribución geográfica de los planteles incluyó las regiones de Arica y Parinacota, Valparaíso, Metropolitana y de O'Higgins (Cuadro 1).

Cuadro 1. Distribución de estratos productivos por plantel de aves y región de origen para la investigación de ORT y MA, 2008.

Plantel	Estrato productivo	Región
Empresa 1	Reproductora broilers	Valparaíso
	Reproductora broilers	O'Higgins
	Reproductora broilers	O'Higgins
	Broilers	O'Higgins
	Broilers	O'Higgins
	Broilers	O'Higgins
Empresa 2	Reproductora broilers	Metropolitana
	Broilers	Metropolitana
Empresa 3	Broilers	Metropolitana
Empresa 4	Reproductoras broilers	Arica y Parinacota
	Broilers	Arica y Parinacota
Empresa 5	Pavos de engorda	Valparaíso
	Pavos de engorda	Valparaíso
Empresa 6	Broilers	Metropolitana

3.2. Muestras y diseño de muestreo

Las muestras utilizadas en el estudio SAG – Empresa 1, que presentó la notificación inicial, fueron aves enteras obtenidas a partir de los sectores de reproductoras que presentaron la mayor diferencia de títulos serológicos en septiembre de 2008, respecto del muestreo realizado en julio del mismo año que ocasionó la denuncia.

En los restantes estudios se utilizaron tómulas traqueales colectadas de reproductoras broilers y de pavos y aves de engorde, desde sectores que presentaban problemas respiratorios o productivos que pudiesen estar asociados a ORT y/o MA. Todas las

muestras fueron colectadas por MVA, visadas por MVO de los sectores SAG, y enviadas al Laboratorio SAG, en Lo Aguirre, para preparación y envío al extranjero, salvo las muestras colectadas por la Empresa 1, en noviembre de 2008 (estudio mencionado en el punto 2.2). El Cuadro 2 muestra la identificación y protocolos de las muestras enviadas a Alemania en diciembre.

Cuadro 2. Identificación, protocolo SAG, plantel de origen, número de tómulas y tipo de muestras enviadas a Alemania para diagnóstico de ORT y MA, 2008.

Identificación	Nº de protocolo SAG	Plantel	Nº de tómulas	Tipo de muestra
1, 2 y 3	10919	Empresa 4	15	Tubos A (3)
4, 5 y 6	10935	Empresa 3	30	3 tubos con pools de 5
7, 8 y 9	10946	Empresa 6	15	A1, A2 y A3
10	10947	Empresa 1	1 Pool	Pool 2 código F-576
11	10948	Empresa 1	1 Pool	Pool 1 Código F574
12	10949	Empresa 1	1 Pool	Pool 3 Código F 572
13	10959	Empresa 2	2 Tubos	-
14 y 15	10951	Empresa 2	4 Tubos	-
16, 17 y 18	11046	Empresa 3	30	6 Pools de 5 cada uno
19, 20 y 21	11048	Empresa 5	6 tubos	-

3.3. Laboratorios diagnósticos y técnicas de análisis

Las aves enteras fueron analizadas en la Unidad de Patología del Laboratorio SAG, en Lo Aguirre, y se enviaron muestras a los laboratorios de bacteriología y virología. Para el diagnóstico en el extranjero se enviaron muestras de tómulas traqueales al Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie, Italia (Dra. I. Capúa); a la Universidad Libre de Berlín (Dr. Hafez), Alemania; al NSVL en Ames, Iowa, Estados Unidos y al Laboratorio R&D Service Lab, Intervet, Holanda.

Las técnicas diagnósticas empleadas fueron:

- i) Serología de MA: ELISA, Idexx® (Idexx, 2008).
- ii) Viroológico: para MA, células Vero para serotipo C y TOC (cultivo de órganos traqueales) para serotipos A y B; para serología: IDAG.
- iii) Bacteriología: cultivos para *Ornithobacterium rhinotracheale*.
- iv) Análisis molecular MA y ORT: RT-PCR .

3.4. Fuentes de información y encuesta

Para recabar datos epidemiológicos se elaboró y envió una encuesta a los planteles en los cuales se colectaron las muestras para análisis epidemiológico. Adicionalmente se solicitó información diagnóstica a laboratorios privados y se construyeron mapas nosológicos en base a los datos aportados por APA.

3.5. Análisis de datos

El diseño de muestreo de la Empresa 1 se realizó con el programa Win Episcope®. Los datos provenientes de las empresas se recibieron en planillas Excel y en formato Word. Los datos espaciales se incluyeron en el sistema Google Earth®.

4. Resultados

4.1. *Ornithobacterium rhinotracheale*

De un total de 21 pooles de tómulas enviadas a la Universidad Libre de Berlín, el 23 de diciembre de 2008, 15 (71,42%) fueron positivas a ORT mediante la técnica de PCR (Anexo 1). Las muestras pertenecían a 6 de los 7 planteles muestreados, reflejando un 83,5% de positividad en las empresas, para la bacteria (Cuadro 3).

Cuadro 3. Resultados a ORT según plantel de origen, 2008.

Identificación	Nº de protocolo	Plantel	Tómulas	Identificación	Resultados ORT
1, 2 y 3	10919	Empresa 4	15	Tubos A (3)	3 muestras (+)
4, 5 y 6	10935	Empresa 3	30	3 tubos con pooles de 5	3 muestras (+)
7, 8 y 9	10946	Empresa 6	15	A1, A2 y A3	7 y 8 (+), 9 (-)
10	10947	Empresa 1	1 Pool	Pool 2 código F-576	(-)
11	10948	Empresa 1	1 Pool	Pool 1 Código F574	(-)
12	10949	Empresa 1	1 Pool	Pool 3 Código F 57	(+)
13	10959	Empresa 2	30		(-)
14 y 15	10951	Empresa 2	60bos	6 Pools de 5 cada uno	2 muestras (-)
16, 17 y 18	11046	Empresa 3	30		3 muestras (+)
19, 20 y 21	11048	Empresa 5	6 tubos		3 muestras (+)

El 19 de marzo de 2009 se confirmó que el serotipo de ORT era el A, en el laboratorio R&D Service Lab, Intervet, Holanda. Este serotipo es el más frecuente mundialmente y es controlado mediante el uso de autovacunas o vacunas comerciales inactivadas junto a la aplicación de antibióticos para prevenir las infecciones secundarias.

La distribución espacial de los resultados positivos incluía todas las regiones incorporadas en el estudio. En el Mapa 2 se observa la distribución de los casos positivos en la zona central del país.

La población afectada total (sin incluir los datos de la empresa 4) fue de 302.940 pavos y de 1.435.945 gallinas, incluyendo broilers, con totales aproximados de casos de 63.801 (pavos) y 1.405.945 (gallinas) y de muertos de 3.675 (pavos) y 136.866 (gallinas). En el Cuadro 4 se resume la información de animales susceptibles, casos y muertos.

Mapa 1. Distribución de resultados positivos a ORT en la zona central, mediante aislamiento bacteriológico y PCR, 2008.



Cuadro 4. Número de susceptibles, casos y muertos de pavos y gallinas positivas a ORT, 2008.

Especie-Unidad	Población afectada (%)	Susceptibles	Casos	Muertos	Destruídos	Sacrificados
Pavos	21,06	302.940	63.801	3.675	0	0
Gallinas	97,9	1.435.945*	1.405.945	136.866	0	0

* No se incluye el número de aves de la empresa 4.

Cabe señalar, que el manejo de las aves y la bioseguridad de los planteles cumplían los estándares recomendados por las líneas genéticas.

Los hallazgos clínicos en gallinas mostraron la presencia de problemas respiratorios con chasquidos, ronquera de leve a moderada y conjuntivitis moderada según el grado de contaminación con otros agentes secundarios como *Escherichia coli*. En pavos se describieron problemas respiratorios, decaimiento general en el pabellón, disminución del consumo de alimento y apatía.

Los hallazgos patológicos señalaron la existencia de sacos aéreos con aspecto lechoso, congestión pulmonar unilateral y traqueitis en las gallinas, mientras que en los pavos se observó aerosaculitis, rinoatraqueitis y neumonía en algunos casos.

Para efectos operativos se estableció la definición de caso para ORT señalada en la Tabla 1.

Tabla 1. Definición de caso para ORT.

Tipo de caso	Características	Acciones recomendadas
Sospechoso	Gallinas y pavos con problemas del tracto respiratorio alto: conjuntivitis, tos y estornudos, y decaimiento general	<ul style="list-style-type: none">o Realizar diagnóstico diferencial de otras enfermedades respiratorias de las aves.o Aplicación de tratamiento con antibióticos para prevenir infecciones secundarias.
Confirmado	Aislamiento viral y/o diagnóstico molecular positivo (por ejemplo, PCR)	<ul style="list-style-type: none">o Aumento de la bioseguridad.o Elaboración de autovacuna o aplicación de vacuna comercial inactivada.o Aplicación de tratamiento con antibióticos para prevenir infecciones secundarias.

La fecha estimada de las infecciones por ORT no se pudo determinar durante la investigación epidemiológica, dada su amplia diseminación en el país y las dificultades asociadas a su diagnóstico.

Dentro de las posibles fuentes de infección cabe el movimiento de aves infectadas dentro de los planteles positivos mediante movimientos internos, o hacia los planteles mediante aves silvestres, las cuales pudieron actuar como portadoras. Otras posibilidades como personas, fómites, alimento o agua no se pudieron descartar ni confirmar. Los resultados indican que esta bacteria está diseminada en los planteles de aves de carne del país.

Las acciones de vigilancia incluyeron la comunicación de los resultados sanitarios y productivos de los lotes afectados, la atención de las denuncias, la toma de muestra para la realización de los estudios y la evaluación espacial del evento respecto su diseminación.

No se demostró la evidencia de diseminación del ORT a las personas y no se reportaron problemas zoonóticos.

Las medidas de control adoptadas fueron: reforzamiento de la vacunación contra otras enfermedades respiratorias como bronquitis infecciosa; aplicación de antibióticos; mejoramiento de las medidas de bioseguridad, y, por parte de dos empresas, solicitud de autorización para elaborar autovacunas. No se recomienda la realización de un programa de erradicación de la enfermedad, dada la presencia de reservorios silvestres.

El ORT no es una enfermedad de la Lista de la OIE y tampoco de notificación obligatoria en Chile. La nueva situación epidemiológica no considera la modificación de este estatus, dado que es un patógeno secundario a infecciones virales.

Las recomendaciones de control se asocian a un mejoramiento de la bioseguridad, al uso de autovacunas y a la autorización de registro de vacunas comerciales inactivadas para libre disposición de los avicultores del país con el serotipo A.

4.2. Metapneumovirus aviar

En septiembre de 2008 se colectaron las aves del estudio realizado en conjunto entre el SAG y la Empresa 1 (estudio mencionado en el punto 2.2.). Los resultados de patología no señalaron la presencia de lesiones respiratorias y sólo observaron lesiones compatibles con un cuadro de coccidiosis en una de las aves (Protocolo 8474, 2008).

Las muestras obtenidas en el 24 de octubre que fueron positivas a ORT (estudio señalado en el punto 3.2.) y negativas para MA (Universidad Libre de Berlín).

Las muestras colectadas en noviembre por la Empresa 1 y enviadas a Italia (estudio señalado en el punto 2.2) mostraron un resultado positivo a MA tipo A mediante PCR, a partir de una tórula traqueal proveniente de un sector de pollos de engorda y uno de reproductoras broilers (13 de noviembre de 2008), ubicados en las comunas de Rancagua (Región de O'Higgins) y San Antonio (Región de Valparaíso), respectivamente.

Las muestras de tórulas traqueales colectadas en el mismo sector de reproductoras broilers en el cual se colectaron las muestras de noviembre (comuna de San Antonio), colectadas en enero y enviadas a Alemania e Italia (estudio señalado en el punto 2.2.), mostraron resultados positivos a MA tipo A, (6 y 13 de febrero de 2009), respectivamente, mediante PCR (Anexo 2).

La distribución espacial de los resultados positivos confirmados incluye dos de las regiones con mayor densidad de aves del país: Valparaíso y O'Higgins. En el Mapa 2 se observa la distribución de los casos confirmados.

La población afectada fue de 556.485 gallinas, incluyendo broilers, con un total aproximado 169.635 casos (80% y 30% de morbilidad en reproductoras y broilers, respectivamente) y 67.851 muertos. El análisis preliminar permitió establecer que el riesgo de ser afectado por MA fue 9,3 veces mayor en las reproductoras que en los broilers (OR = 9,33; IC 9,13; 9,53). En El Cuadro 5 se resume la información de animales susceptibles, casos y muertos.

Cuadro 5. Número de gallinas susceptibles, casos y muertas positivas a MA, 2008.

Especie-Unidad	Población afectada* (%)	Susceptibles	Casos	Muertos	Destruídos	Sacrificados
Gallinas	80	58.000	46.400	1.136	0	0
Broilers	30	410.785	123.235	66.715	0	0

* OR: 9,33; IC (9,13; 9,53); p = 0,0000.

Cabe señalar, que el manejo de las aves y la bioseguridad de los planteles cumplían los estándares recomendados por las líneas genéticas.

Mapa 2. Distribución de resultados positivos confirmados a metapneumovirus aviar, mediante PCR, 2008.



Los hallazgos clínicos en las reproductoras broilers señalan la presencia de una baja de postura en torno al 15%, menor resistencia de la cáscara de los huevos y mala calidad de los pollitos. En los broilers se observó un aumento de la mortalidad en un 4%, así como de los descartes y de la eliminación durante toda la crianza, y síntomas respiratorios en la última semana antes de la faena.

Los hallazgos patológicos de campo muestran debilidad de patas con necrosis de cabeza de fémur, colibacilosis y celulitis junto con las lesiones respiratorias.

Para efectos operativos se estableció la siguiente definición de caso para MA

Para efectos operativos se estableció la definición de caso para MA en gallinas y en pavos, señalada en la Tabla 2.

Tabla 2. Definición de caso para MA en gallinas (rinotraqueitis aviar- ART) y en pavos (rinotraqueitis del pavo - TRT).

Tipo de caso	Características	Acciones recomendadas
Sospechoso	<ul style="list-style-type: none"> ○ Reproductoras (gallinas y pavos) con baja de postura en más de un 15% y/o problemas del tracto respiratorio alto (conjuntivitis, tos y estornudos); broilers o pavos con problemas del tracto respiratorio alto y mortalidad mayor al 10%. ○ Aerosaculitis y/o, congestión pulmonar. 	<ul style="list-style-type: none"> ○ Realizar diagnóstico diferencial de otras enfermedades respiratorias de las aves (influenza aviar, enfermedad de Newcastle, bronquitis Infecciosa, laringotraqueitis). ○ Aplicación de tratamiento con antibióticos para prevenir infecciones secundarias.
Probable	<ul style="list-style-type: none"> ○ Signos clínicos y lesiones anatómicas de un cuadro sospechoso a MA. ○ Serología positiva a MA no consecutiva a una vacunación contra el virus. 	<ul style="list-style-type: none"> ○ Comunicación al SAG si la especie afectada son pavos. ○ Aplicación de tratamiento con antibióticos para prevenir infecciones secundarias. ○ Mejoramiento de las medidas de bioseguridad. ○ Aplicación de vacunas inactivadas en reproductoras o vacunas vivas, estas últimas según evaluación de riesgo.
Confirmado	<ul style="list-style-type: none"> ○ Aislamiento viral y/o diagnóstico molecular positivo (por ejemplo, PCR). 	<ul style="list-style-type: none"> ○ Comunicación al SAG si la especie afectada son pavos. ○ Aumento de la bioseguridad. ○ Aplicación de tratamiento con antibióticos para prevenir infecciones secundarias. ○ Aplicación de vacunas inactivadas en reproductoras o vacunas vivas, estas últimas según evaluación de riesgo.

La fecha estimada de la infección del brote en las reproductoras broilers de la empresa 1, se estima entre abril y junio de 2008, que es cuando se produjo el aumento de títulos comunicado al SAG. Por otra parte, se puede inferir que el MA se encuentra presente en Chile desde el año 1997, cuando se obtuvieron las primeras evidencias serológicas en pavos en la zona interior de la Región de Valparaíso, aunque no se logró su identificación hasta el presente trabajo.

Dentro de las posibles fuentes de infección cabe el movimiento de aves infectadas dentro de los planteles positivos mediante movimientos internos, o hacia los planteles mediante aves silvestres, las cuales pudieron actuar como portadoras. Otras posibilidades como personas, fómites, alimento o agua no se pudieron descartar ni confirmar.

Las acciones de vigilancia incluyeron la comunicación, por parte de las empresas, de los resultados sanitarios y productivos de los lotes afectados, la atención de las denuncias, la toma de muestra para la realización de los estudios y la evaluación espacial del evento respecto su diseminación.

La investigación epidemiológica, además, determinó que se presentaron habitualmente títulos serológicos contra MA en reproductoras broilers mayores a 30 semanas en la Empresa 6, y que estudios realizados por productores de huevos mostraron títulos en tres compañías, en las regiones Metropolitana y de Valparaíso, aunque sin signos clínicos (Bass, 2009). Hasta la fecha no se ha identificado MA en pavos.

La literatura científica no ha demostrado evidencia de diseminación de MA a las personas y no se reportaron en los casos detectados problemas zoonóticos.

Las medidas de control adoptadas por las empresas fueron: reforzamiento de la vacunación contra otras enfermedades respiratorias como bronquitis infecciosa; vacunación con biológicos inactivados contra MA; aplicación de antibióticos para prevenir infecciones secundarias, y mejoramiento de las medidas de bioseguridad. No se recomienda la realización de un programa de erradicación de la enfermedad, dada la presencia de reservorios silvestres.

Dentro de las acciones que se han desarrollado se incluye: análisis de riesgo de la introducción de vacunas vivas contra MA para uso en reproductoras broilers; levantamiento serológico de MA en los planteles comerciales de postura, incluyendo la recopilación de los resultados de laboratorio 2007 y 2008, y la autorización de registro de vacunas inactivadas para uso libre en el país.

5. Conclusiones

La investigación epidemiológica desarrollada buscó identificar al ORT y el MA en Chile, su distribución geográfica, la presentación epidemiológica, clínica y patológica, así como su impacto productivo, a fin de elaborar la estrategia de control más adecuada.

- Confirmación de *Ornithobacterium rhinotracheale*: con fecha 23 de diciembre de 2008, el SAG confirmó, por primera vez, la identificación de *O. rhinotracheale* (ORT) en Chile, agente secundario de infecciones respiratorias en gallinas y pavos comerciales de establecimientos avícolas.
- Distribución geográfica de ORT: un estudio realizado con APA y AMEVEA (II semestre de 2008) determinó que las zonas detectadas con ORT corresponden a las regiones de Arica y Parinacota, de Valparaíso, Metropolitana y de O'Higgins.
- Confirmación de metapneumovirus aviar (MA): con resultados fechados el 13 de noviembre de 2008, y 6 y 13 de febrero de 2009, el SAG confirmó la identificación de MA en Chile, agente causal de la rinotraqueitis aviar (ART) en gallinas, y uno de los agentes causales posibles de producir el síndrome de cabeza hinchada (SCH) en aves, a partir de un cuadro clínico de ART con signos reproductivos en reproductoras broilers y respiratorios en pollos de engorde comercial.
- Distribución geográfica de MA: en julio de 2008 un establecimiento avícola con granjas ubicadas en las regiones de Valparaíso y de O'Higgins, el cual fue denunciado al SAG. Hasta la fecha, el virus de la MA no ha sido identificado en pavos en el territorio nacional.

- Evidencias clínicas de ORT y MA y tasas de presentación de ambas enfermedades: la evidencia clínica observada en gallinas y pollos mostró un cuadro respiratorio alto en todos los casos de ORT; para MA, una baja de postura, baja calidad de cáscara y mala calidad de pollitos, en reproductoras broilers, y un aumento en la mortalidad y descarte en pollos de engorde, asociado a problemas respiratorios. La tasa de mortalidad en la población de pollos alcanzó un 15,9%.
- Medidas de control recomendadas:
 - mejoramiento de las medidas de bioseguridad en los planteles de aves;
 - comunicación de los nuevos agentes a los productores avícolas del país;
 - evaluación de la extensión de la infección por MA;
 - análisis de riesgo asociado a la densidad poblacional avícola en la zona productora de aves y huevos comprendida entre las regiones de Valparaíso, Metropolitana y de O'Higgins;
 - sugerencia de uso de antibióticos como prevención de infecciones secundarias ante la detección de cuadros clínicos por los nuevos agentes identificados en el país;
 - análisis y mejoramiento de los programas de vacunación contra virus causantes de enfermedades respiratorias;
 - autorización de elaboración de autovacunas contra ORT;
 - registro de vacunas comerciales inactivadas contra ORT cuando incluyan el serotipo A;
 - autorización de registro de vacunas inactivadas contra MA.

6. Bibliografía

- Al-Ankari, A; Bradbury, J. M.; Taylor, C.; Worthington, K.; Payne-Johnson, C. and Jones, R. 2001. Avian pneumovirus infection in broiler chicks inoculated with *Escherichia coli* at different time intervals. *Avian Pathology* 30: 257-267
- Aviagen. 2008. Welcome to Ross: Generations of innovations. [En línea] <<http://www.aviagen.com/home.aspx?siteId=2>> [Consulta: 30 de julio de 2008].
- Bass, M. 2009. Reporte de resultados serológicos mediante ELISA para MA, años 2008 y 2009.
- Bennett, R.; LaRue, R.; Shaw, D.; Yu, Q.; Nagaraja, K.; Halvorson, D.; and Kariuki, M. 2005. A Wild Goose Metapneumovirus Containing a Large Attachment Glycoprotein Is Avirulent but Immunoprotective in Domestic Turkeys. *Journal of Virology* 79: 14834–14842.
- Cavanagh, D. Mawditt, K.; Britton, P. and Naylor, C. 1999. Longitudinal field studies of infectious bronchitis virus and avian pneumovirus in broilers using type-specific polymerase chain reactions. *Avian Pathology* 28, 593 – 605.
- Chacón, J.; Brandão, P.; Guim, M.; Villarreal, L. y Piantino, A. 2007. Detection by reverse transcriptase-polymerase chain reaction and molecular characterization of subtype B avian metapneumovirus isolated in Brazil. *Avian Pathology* 36(5): 383 – 387.
- Collins, M. S. and Gough, R.E. 1988. Characterization of a Virus Associated with Turkey Rhinotracheitis. *J. gen. Virol.* 69, 909-916.
- Cook, J.; Cheshier, J.; Orthel, F.; Woods, M.; Orbell, S.; Baxandale, W. and Huggins, M. 2000. Avian pneumovirus infection of laying hens: experimental studies. *Avian Pathology* 29: 545 – 556.
- D' Arce, R.; Coswig, L.; Almeida, R.; Trevisol, I.; Monteiro, M.; Rossini, L.; Fabio, J.; Hafez, H. and Arns, C. 2005. Subtyping of new brazilian avian metapneumovirus isolates

- from chickens and turkeys by reverse transcriptase –nested-polymerase chain reaction. *Avian Pathology* 34(2): 133-136.
- Fernández, R. 2002. Pneumovirus aviar. Diagnóstico y control en aves domésticas. I Congreso Zuliano de Patología Aviar. Maracaibo, Venezuela.
- Gharaibeh, S. and Algharaibeh, G. 2007. Serological and Molecular Detection of Avian Pneumovirus in Chickens with Respiratory Disease in Jordan. *Poultry Science* 86:1677–1681.
- Gough, R. 2003. Avian Pneumoviruses. In *Disease of Poultry*. Saif; Barnes; Glisson; Fadly; McDougald; Swayne. 11th Edition. Balckwell Publishing Company. 1233 páginas.
- Goyal, S.; Chiang, S.; Dar, A.; Nagaraja, K.; Shaw, D.; Halvorson, D. and Kapur, V. 2000. Isolation of avian pneumovirus from an outbreak of respiratory illness in Minnesota turkeys. *J Vet Diagn Invest* 12:166–168.
- Hafez, H.; Hess, M.; Prusas, C.; Taylor, C. and Cavanagh, D. 2000. Presence of Avian Pneumovirus Type A in Continental Europe during the 1980s. *J. Vet Med.* B47: 629 – 633.
- Idexx Laboratories. 2009. [En línea] www.idexx.com [Consulta: 3 de marzo de 2009].
- Khehra, R. and Jones, R. 1999. In vitro and in vivo studies on the pathogenicity of avian pneumovirus for the chicken oviduct. *Avian pathology* 28: 257 – 262.
- Kilic, A.; Timurkaan, N.; Ertas, B. and Yilmaz, F. 2009. Pathological examination and bacterial reisolation by culture and PCR of experimental *Ornithobacterium rhinotracheale* infection in broiler chickens. *Revue Méd. Vét.*, 2009, 160, 3, 140-144
- Lauritsen J. M. 2008. (Ed.) EpiData Data Entry, Data Management and basic Statistical Analysis System. Odense Denmark, EpiData Association, 2000-2008. [En línea] <<http://www.epidata.dk/>> [Consulta: 30 de junio de 2008].
- Ling, R. and Pringle C. 1988. Turkey Rhinotracheitis Virus: in vivo and in vitro Polypeptide Synthesis. *J. gen. Virol.* (1988), 69, 917-923.
- Ling, R.; Sinkovic, S.; Toquin, D.; Guionie, O.; Eterradossi, N. and Easton, A. 2008. Deletion of the SH gene from avian metapneumovirus has a greater impact on virus production and immunogenicity in turkeys than deletion of the G gene or M2-2 open reading frame. *Journal of General Virology*, 89, 525–533.
- Machado de Castro. 2000. *Enfermidades do Sistema Respiratório. Doenças das aves.* FACTA. Brasil. 332 páginas.
- Marien, M.; Decostere, A.; Martel, A.; Chiers, K.; Froyman, R. and Nauwynck, H. 2005. Synergy between avian pneumovirus and *Ornithobacterium rhinotracheale* in turkeys. *Avian pathology* 34: 204 – 211.
- Marínez-Bautista, R.; Rivera-Benitez, F.; Gutiérrez, D.R.; Ríos, F.; Aguilera, A.; Ramírez-Mendoza, H. 2008. Detección y aislamiento de metapneumovirus aviar en México. XXI Congreso Panamericano de Ciencias Veterinarias. Guadalajara, México.
- Murthy, T.; Balasubramaniam, N. and Manicavasaka, A. 2008. Pathogenic bacteria related to respiratory diseases in poultry with reference to *Ornithobacterium rhinotracheale* isolated in India. *Veterinarski Arhiv* 78 (2), 131-140.
- Organización Mundial de Sanidad Animal (OIE). 2008. Manual de las Pruebas de Diagnóstico y de las Vacunas para los Animales Terrestres. [En línea] <http://www.oie.int/eng/en_index.htm> [Consulta: 30 de julio de 2008].
- Organización Mundial de Sanidad Animal (OIE). 2009a. Código Sanitario para los animales terrestres 2008. [En línea] <http://www.oie.int/esp/normes/mcode/E_summry.htm> [visitado el 20 de marzo de 2009].
- Organización Mundial de Sanidad Animal (OIE). 2009b. Wahid Interfase. Mapas de distribución de las enfermedades [En línea]

- <http://www.oie.int/wahis/public.php?page=disease_status_map&disease_type=Terrestrial&disease_id=191&empty=999999&sta_method=semesterly&selected_start_year=2008&selected_report_period=1&selected_start_month=1&page=disease_status_map&date_submit=OK> [visitado el 2 de marzo de 2009].
- Ozbey, G.; Ertas, H. B. and Muz, A. 2005. Random amplified polymorphic DNA (RAPD) analysis of *Ornithobacterium rhinotracheale* strains isolated from chickens in Turkey. *Vet. Med. – Czech*, 50, 2005 (12): 526–530
- Rahimi, M. and Banani, M. 2007. Isolation of *Ornithobacterium rhinotracheale* from the chickens of a broiler farm in Kermanshah province, west of Iran. *Iranian Journal of Veterinary Research, University of Shiraz*, Vol. 8, No. 4, Ser. No. 21.
- Rivera, H.; Icochea, E.; Hung, A.; Ramirez, A. Y Rosadio, R. 1999. Etiología del síndrome de cabeza hinchada en broilers. XVI Congreso Latinoamericano de Avicultura. Lima, Perú. 470 págs.
- Saif, Y. M.; Barnes, H.; Glisson, J.; Fadly, A.; Mc Dougald, L. and Swayne, D. 2003. *Disease of Poultry*. 11 edition. Blackwell Publishing. Ames, Iowa, Estados Unidos. 1233 páginas.
- Shin, H.; Rajashekara, G.; Jirjis, F.; Shaw, D.; Goyal, S.; Halvorson, D. and Nagaraja, K. 2000. Specific detection of avian pneumovirus (APV) US isolates by RT-PCR. *Arch Virol* (2000) 145: 1239–1246.
- Tiwari, A.; Patnayak, D. and Goyal, S. 2006. Attempts to improve on a challenge model for subtype C avian pneumovirus. *Avian Pathology* 35: 117 – 121.
- Toro, H.; Hidalgo, H.; Ibáñez, M. y Hafez, H.M. 1998. Serologic evidence of Pneumovirus in Chile. *Avian Diseases* 42: 815 – 817.
- Wageck, C.; Silveira, S.; Aparecida, R.; Bello, L.; Dias de Oliveira, S. y Beltrão, N. 2002. Detecção de *Ornithobacterium rhinotracheale* (ORT) por meio da reação em cadeia da polimerase (PCR). *Ciência Rural*, Santa Maria, v.33, n.2, p.377-379, 2003
- Win Episcopo. 2009. [En línea]
<<http://www.clive.ed.ac.uk/cliveCatalogueItem.asp?id=B6BC9009-C10F-4393-A22D-48F436516AC4>> [Consulta: 3 de marzo de 2009].
- Van de Zande, S.; Nauwynck; H.; De Jonghe, S. and Pensaert, M. 1999. Comparative pathogenesis of a subtype A with a subtype B avian pneumovirus in turkeys. *Avian Pathology* 28: 239 – 244.
- Van Loock, M.; Loots, K.; Van de Zande, S.; Van Heerden, M.; Nauwynck, h.; Goddeeris, B.M. and Vanrompay, D. 2006. Pathogenic interactions between *Chlamydoxiphila psittaci* and avian pneumovirus infections in turkeys. *Veterinary Microbiology* 112 (2006) 53–63
- Verdi, R. 2007. Poulvac TRT, la nueva alternativa para el control de la Pneumovirosis aviar. IV Reunión de distribuidores Fort Dodge.

Anexo 1. Resultados positivos a ORT en Chile, 2008



Institut für Geflügelkrankheiten
Königsweg 63, 14163 Berlin

Dr. Mathieu Christian
Servicio Agrícola y Ganadero
Ayquina 1561, Las Condes
Santiago de Chile

Chile

Faculty of Veterinary Medicine
Institute of Poultry Diseases
Head Prof. Dr. H. M. Hafez
Tel.: +49-30-838 62677
Fax: +49-30-838 62690
E-Mail hafez@vetmed.fu-berlin.de

 **AKS** Akkreditierung: AKS-PL-21116
Verzeichnis: www.aks-hannover.de
Staatliche Akkreditierungsstelle Hannover

Fax: +56 2 3451928

Berlin 23.12. 2008

Our Lab-No. : GB 1450/08

Examination report of sent 21 – Pools - Tracheal swabs from poultry

Date of send: 15.12.08
Date of receive: 18.12.08
Investigation time: 18.12.2008 – 23.12.2008

Results of PCR

Pool No.	PCR	
	TRT Virus-RNA	ORT - DNA
1.	negative	positive
2.	negative	positive
3.	negative	positive
4.	negative	positive
5.	negative	positive
6.	negative	positive
7.	negative	positive
8.	negative	positive
9.	negative	negative
10.	negative	negative
11.	negative	negative
12.	negative	positive
13.	negative	negative

Pool No.	PCR	
	TRT Virus-RNA	ORT - DNA
14.	negative	negative
15.	negative	negative
16.	negative	positive
17.	negative	positive
18.	negative	positive
19.	negative	positive
20.	negative	positive
21.	negative	positive



Univ.-Prof. Dr. Dr. H.M. Hafez

Anexo 2. Resultados positivos a MA en reproductoras broilers, Chile, 2009



Institute of Poultry Diseases
Königsweg 63, 14163 Berlin

Dr. Mathieu Christian
Servicio Agrícola y Ganadero
Ayquina 1561, Las Condes

Santiago de Chile, Chile

Fax: +56 2 3451928

Faculty of Veterinary Medicine
Institute of Poultry Diseases n

Head: Prof. Dr. H. M. Hafez
Tel.: +49-30-838 62677
Fax: +49-30-838 62690
E-mail hafez@vetmed.fu-berlin.de

Berlin 19.02. 2009

Az: GB 199/2009

Dr. Mathieu Christian

By Investigation of sent tracheal swabs (receipt of samples: 13.02.09) using PCR following results were obtained

Sample no.	Sample character	Results of PCR	
		TRT Virus RNA	ORT-DNA
H022	Dry swabs	TRT subtype A	negative
H025		negative	negative
H028		negative	negative
1	Swabs in RNAlater	negative	negative
2		negative	negative
3		negative	negative
4		negative	negative
5		negative	negative
6		negative	negative
7		negative	negative
8		negative	negative
9		negative	negative

The cDNA sample was not enclosed. As QIAGEN does not provide an official protocol for RNA-extraction from swabs stored in RNAlater we can not guarantee an optimal RNA extraction. We recommend sending dry swabs for RNA detection.

Sincerely Yours

Prof. Dr. H. M. Hafez