

## PRIMER AISLAMIENTO DE *Ornithobacterium rhinotracheale* EN ARGENTINA

Uriarte J, Piscopo M, Origlia J, Gornatti D, Cerda R, Herrero M, Petruccelli M

Laboratorio de Diagnóstico de Enfermedades de las Aves y los Pilíferos.  
Facultad de Ciencias Veterinarias. Universidad Nacional de La Plata

**Resumen:** *Ornithobacterium rhinotracheale* (ORT) es una bacteria gram negativa, cocobacilar, pleomórfica que fue aislada de parvadas de pavos y pollos parrilleros en muchos países del mundo y de América Latina como México, Brasil y Perú. Las aves afectadas con ORT presentan signología respiratoria, acompañada con un incremento en la mortalidad y disminución en la ganancia de peso. Pollos parrilleros con signos respiratorios fueron enviados desde una granja ubicada en la Provincia de Buenos Aires, Argentina. Muestras de tráquea y pulmones fueron seleccionadas, homogeneizadas e inoculadas en Agar Sangre. Los aislamientos sospechosos de ORT tipificados bioquímicamente fueron confirmados por PCR en tiempo real. Este es el primer aislamiento de ORT en la República Argentina.

**Palabras clave:** *Ornithobacterium rhinotracheale*, Aislamiento, Pollos, PCR en tiempo real

## FIRST ISOLATION OF *Ornithobacterium rhinotracheale* (ORT) IN ARGENTINA

**Abstract:** *Ornithobacterium rhinotracheale* (ORT) is a gram negative, pleomorphic, rod shaped bacterium that has been isolated around the world and in Latin America from flocks of turkeys and broilers in countries like Mexico, Brazil and Peru. ORT causes a respiratory disease with increase of mortality and reduced weight gains. Broilers with respiratory signs were submitted from a farm located in Buenos Aires Province, Argentina. Tissue samples from trachea and lungs were selected, homogenized and inoculated in sheep blood agar. The suspected colonies that fulfill the biochemical test were confirmed using Real Time PCR. This is the first report of ORT isolation in Argentina.

**Key Words:** *Ornithobacterium rhinotracheale*, Isolation, Poultry, Real Time PCR

Fecha de recepción: 22/05/09

Fecha de aprobación: 10/12/09

**Dirección para correspondencia:** M. Pretuccelli, Laboratorio de Diagnóstico de Enfermedades de las Aves y los Pilíferos. Facultad de Ciencias Veterinarias. Universidad Nacional de La Plata. CC 296, (B1900AVW) La Plata. Argentina. E-mail: [petru@fcv.unlp.edu.ar](mailto:petru@fcv.unlp.edu.ar)

## INTRODUCCIÓN

La bacteria *Ornithobacterium rhinotracheale* (ORT) ha sido asociada a enfermedad respiratoria en avicultura. Al principio fue descrita como un organismo similar a *Pasteurella* ssp. (*Pasterurella-like*) o también como una bacteria pleomórfica, cocobacilar gram negativa. En el año 1991 se realizó el primer aislamiento en una granja de parrilleros en la República de Sud África (1). En el año 1994, Vandamme et al. propusieron el nuevo género y especie *Ornithobacterium rhinotracheale* (2, 4). ORT ha sido aislado en varios países alrededor del mundo como Sud Africa, España, Italia, Israel, Canadá, Perú, México y Brasil.

En el presente estudio se describe el primer aislamiento de *Ornithobacterium rhinotracheale* en la República Argentina, confirmado por medios bioquímicos, fenotípicos y genéticos utilizando la técnica clásica de PCR y la de PCR en tiempo real.

## MATERIALES Y MÉTODOS

Aves con signos respiratorios fueron remitidas en septiembre del 2008 al laboratorio por el propietario de una granja de pollos parrilleros ubicada en la provincia de Buenos Aires, Argentina. La misma estaba compuesta por dos galpones que albergaban aproximadamente 500 aves cada uno. Separadas por edades, en uno de ellos, pollitos de aproximadamente 10 días y en el otro, aves de 2 meses de edad. El establecimiento constaba de una inadecuada ventilación, escasa higiene y como consecuencia un alto nivel de amoníaco en el aire. El alimento suministrado a las aves era elaborado por el propietario sin ningún tipo de control sobre la calidad de la materia prima, su composición proteica, energética o mineral. A la mezcla se le adicionaba núcleo mineral de marca comercial reconocida.

Las aves comenzaron a mostrar signos respiratorios como disnea, descarga nasal y estornudos que en algunos casos llevaban a una dificultad respiratoria marcada con postración y boqueo. Algunos de los pollos presentaban problemas de locomoción y edema abdominal. El porcentaje de mortalidad fue en ascenso llegando a un 3 % a 4 % diario acompañada de una notable desuniformidad de la parvada.

Se realizaron necropsias de aves con y sin signos clínicos. Los hallazgos anatomopatológicos fueron neumonía, aerosaculitis y un incremento en el mucus traqueal, más notorio en las aves con trastornos respiratorios severos. En algunos ejemplares se observó edema abdominal, hepatomegalia y sinovitis.

Se seleccionaron muestras de tráquea, pulmones y sacos aéreos, las cuales fueron sembradas en placas de agar sangre de cabra al 5 % con 10 µg/ml de gentamicina, y se incubaron por 48 h a 37 °C en microaerofilia. Las colonias

sospechosas de ORT se identificaron por sus características morfológicas y tintoriales mediante la coloración de GRAM. Para diferenciarlos de otras bacterias patógenas del tracto respiratorio de las aves se inocularon en agar Mac Conkey y se realizaron pruebas bioquímicas como la producción de oxidasa, catalasa, indol, ONPG y la fermentación de azúcares como maltosa, galactosa y lactosa. (3).

La confirmación de los aislamientos se realizó mediante la técnica clásica de PCR y la técnica de PCR en tiempo real. Para la misma se utilizó como patrón positivo la cepa CCUG 23171 de *Ornithobacterium rhinotracheale* (2, 4). El DNA fue extraído utilizando el kit DNEASY BLOOD & TISSUE KIT de QUIAGEN® y los primers utilizados fueron el OR16S-F1 (5´-GAGAATTA-ATTTACGGATTAG) y el OR16S-R1 (5´-TTCGCTT-GGCTCCGAAGAT) (5). El volumen final de la reacción fue de 25 µl compuesto por 3µl de DNA bacteriano, 1 µl de cada primer, 12,5 µl de Biorad iQ™ SYBR GREEN Supermix® y 7,5 µl de agua destilada (5,6).

## RESULTADOS

Las colonias sospechosas de ORT, blanco grisáceas circulares de aproximadamente 1 a 2 milímetros de diámetro, fueron repicadas nuevamente en agar sangre de cabra al 5 % para lograr su crecimiento en pureza y de ellas se tomaron muestras para ser coloreadas con la tinción de Gram en las que se observaron bacterias pleomórficas cocobacilares pequeñas gram negativas (3).

Los resultados de las pruebas bioquímicas fueron: crecimiento en Mac Conkey negativo, oxidasa positiva, catalasa e indol negativo y ONPG positivo. La fermentación de los azúcares maltosa, galactosa y lactosa fueron todas positivas.

El resultado de la técnica de PCR en tiempo real fue positivo corroborado por la técnica clásica de PCR que mostró una amplificación de 784 pb al igual que el control positivo, (cepa ATCC 51463), confirmando de esta manera el aislamiento de *Ornithobacterium rhinotracheale*.

## DISCUSIÓN

Quien trabaja en avicultura conoce perfectamente que la presencia de cuadros respiratorios en aves criadas de manera intensiva es común, sin embargo no se realizan diagnósticos precisos sobre la causa de los mismos ya que generalmente se medica por presencia de signos clínicos y mediante antibióticos estos cuadros revierten. Durante cierto tiempo se sospechó en la República Argentina de la existencia de *Ornithobacterium rhinotracheale*, el cual es un patógeno emergente en la avicultura mundial, causando signología respiratoria, disminución

del crecimiento y aumento de mortandad. Este trabajo confirma la presencia de ORT en el país. De todas maneras creemos que es necesario ahondar más en la investigación sobre este patógeno para conocer los serotipos actuantes en el país así como su sensibilidad a los diferentes antibióticos usados en avicultura y su interacción con otros patógenos.

## AGRADECIMIENTOS

El presente trabajo fue financiado parcialmente a través del proyecto PROVETSUR. JICA

## BIBLIOGRAFÍA

1. van Empel PCM, Hafez HM. *Ornithobacterium rhinotracheale*: a review, Avian Pathology 1999, 28, 217 - 227
2. Vandamme P, Hafez HM, Hinz H. Capnophilic Bird Pathogens in the Family Flavobacteriaceae: *Riemerella*, *Ornithobacterium* and *Coenonia* Prokaryotes 7:695-708 Chapter 6.14, 2006.
3. Hafez Mohamed Hafez. Diagnosis of *Ornithobacterium rhinotracheale*. International Journal of Poultry Science 2002, 1(5): 114-118.
4. Vandamme P, Segers P, Vancanneyt M, van Hove K, Mitters R, Hommez J, Dewhirst F, Paster B, Kersters K, Falsen E, Devriese LA, Bisgaard M, Hinz KH, Manheim W. "*Ornithobacterium rhinotracheale* gen. nov., sp. nov., isolated from the avian respiratory tract." Int. J. Syst. Bacteriol. 1994, 44:24-37
5. Alongkorn A, Wellehan JFX, Ling-Ling Li, Vandamme P, Lindeman C, Edman M, Robinson RA, Kapur V. Molecular Epidemiology of *Ornithobacterium rhinotracheale* Journal of Clinical Microbiology 1997, 35 (11): 2894-2898.
6. Ruud Jansen, Niwat Chansiripornchai, Wim Gaastra, Jos PM van Putten. Characterization of Plasmid pOR1 from *Ornithobacterium rhinotracheale* and Construction of a Shuttle Plasmid Applied and Environmental Microbiology, 2004, p. 5853-5858.