



VIRULENCIA BACTERIANA Y RESISTENCIA DE DIFERENTES ESTIRPES DE AVES ASOCIADA CON LA INCIDENCIA DE CELULITIS EN POLLOS

BG Brito^{1*}, TM Tejkowski², GA Oliveira², BD Soares², FRF Jaenisch³, VY Obara², SMH Silva², AR Torres², J Domingues², RO Melo², KCT Brito⁴

¹Instituto de Pesquisas Veterinárias Desidério Finamor. Rio Grande do Sul – Brasil; ²Bolsista CNPq- Brasil; ³Embrapa Suínos e Aves. Santa Catarina – Brasil; ⁴Ecolvet Laboratório. Paraná – Brasil. E-mail: benitobrito@gmail.com

Summary

Cellulitis-associated risk factors such as inoculum dose rate, strain source, and influence of the *iss* and *iutA* genes in the pathogenicity of *Escherichia coli*, and the resistance of two broiler strains were evaluated. The combination of these two genes results in worse lesions, which shows the characteristics of this multifactorial disease. No significant difference was found in the susceptibility to cellulitis in two broiler strains. Furthermore, we observed a correlation between challenge inoculum bacterial concentration and the magnitude of lesions in the chicken. We concluded that the *iss* and *iutA* genes serve as molecular markers for the virulence of cellulitis-producing *E. coli* isolates.

Key Words: Broilers, Cellulitis, Skin, Risk factors.

Resumen

Se evaluaron los factores de riesgo involucrados en la celulitis, tales como la dosis del inóculo, origen de la cepa, la influencia de los genes *iss* y *iutA* en la patogenicidad de *Escherichia coli* y la resistencia de dos estirpes de aves. La asociación de estos dos genes promueve lesiones de mayor intensidad comprobando la característica multifactorial de esta patología. No hubo diferencia significativa en la comparación de las dos estirpes de pollos de engorde en cuanto a la sensibilidad de las lesiones de celulitis. Además, fue posible observar una correlación entre la concentración bacteriana del desafío y el tamaño de la lesión en el ave. Concluimos que los genes *iss* y *iutA* sirven como marcadores moleculares de virulencia para muestras de *Escherichia coli* que causan celulitis.

Palabras Clave: Pollos, Celulitis, Piel, Factores de riesgo.

Introducción

En estudios epidemiológicos sobre la etiología de la celulitis aviar, se verificó que *Escherichia coli* (*E. coli*) es el principal microorganismo encontrado en esta patología (Fallavena, 2000). *E. coli* posee algunos genes responsables de su patogenicidad, entre ellos el *iutA* y el *iss* (Brito *et al.*, 2003). Además, diversos autores relatan que esta enfermedad es multifactorial y que determinadas estirpes de aves tienen una mayor predisposición a problemas de celulitis (Barnes *et al.*, 2003). El objetivo de este trabajo fue analizar los factores de riesgo relacionados con esta patología, tales como la dosis del inóculo, el origen de la cepa, la influencia de los genes *iss* y *iutA* en la patogenicidad de *E. coli* y la resistencia de dos estirpes de aves.

Material y Métodos

Experimento 1

Se utilizaron 100 pollos de engorde Cobb, de 56 días de edad, distribuidos en grupos de 20 aves. Los grupos fueron desafiados con una cepa de *E. coli* (CEL 49) a una concentración de 10⁹ unidades formadoras de colonias (UFC)/ml, 10⁸ UFC/ml, 10⁷ UFC/ml y 10⁶ UFC/ml, y un grupo testigo inoculado solamente con solución salina. Los animales fueron evaluados después de tres días en cuanto a la ocurrencia de lesiones de celulitis.

Experimento 2

Se utilizaron 10 cepas de *E. coli*, 5 de ellas de origen fecal y 5 aisladas de lesiones de celulitis. Cada cepa se caracterizó en cuanto a la presencia o ausencia de los factores de virulencia *iss* y *iutA*, a través de la técnica de Reacción en Cadena con Polimerasa (PCR). Además, se utilizaron 110 pollos de la estirpe Cobb, de un día de nacidos, para su desafío por medio de la prueba de



patogenicidad. Se usaron 10 animales para cada cepa y un grupo testigo que sólo se inoculó con solución salina. En el inóculo, se utilizó una concentración bacteriana de 10^6 UFC/ml. A los tres días se realizó la evaluación de los animales en cuanto a la ocurrencia de lesiones de celulitis.

Experimento 3

Las cepas del experimento anterior, se inocularon en 250 pollos de engorde, de 35 días de edad, de una estirpe comercial. Los pollos fueron divididos en 10 grupos de 20 animales cada uno, y cada grupo se desafió con cepas diferentes. Se utilizaron cincuenta animales como grupo testigo que se inocularon con solución salina. Los grupos fueron inoculados, en el lado izquierdo de la pechuga, vía subcutánea, con 10^7 UFC/ml de cada cepa y fueron observados durante tres días en relación a la ocurrencia de las lesiones. Al cabo de ese período, se realizó la necropsia y se clasificaron las lesiones según el área de la lesión producida.

Experimento 4

Se utilizaron 100 pollos de engorde, 50 de la estirpe Ross y 50 de la estirpe Cobb. Los dos grupos fueron criados de la misma forma, hasta los 35 días de edad, momento en el que fueron desafiados con una cepa virulenta de *E. coli* CEL 49) aislada de una lesión de celulitis. Los animales fueron divididos en 3 tratamientos: el grupo 1 - testigo inoculado con solución salina, el grupo 2 fue desafiado con una dosis de 10^8 UFC/ml (alto desafío) y el grupo 3 recibió 10^5 UFC/ml (bajo desafío), vía subcutánea en la región pectoral. Después de tres días del desafío de las aves se realizó la necropsia y las lesiones se clasificaron según el área y grado de lesión producida.

Resultados y Discusión

Experimento 1

Las aves desafiadas con concentración de *E. coli* de 10^8 UFC/ml y 10^9 UFC/ml presentaron lesiones de celulitis de tamaño medio de 2,8 y 26,8 cm², respectivamente. Las aves que recibieron inóculos de 10^6 UFC/ml y 10^7 UFC/ml no presentaron lesiones de celulitis.

Experimento 2

Las cepas de *E. coli*, aisladas de lesiones de celulitis, presentaron mayor capacidad de matar pollos de un día de edad al ser comparadas con muestras de *E. coli* aisladas de las heces. A través del análisis de PCR, se verificó que las muestras de *E. coli* de baja patogenicidad o apatógenas, no tenían los genes *iss* y *iut A*. Delicato *et al.* (2003), observaron que los genes *iut A*, *iss*, *cva C*, *tsh*, *pap C* y *pap G* y *fel A* fueron detectados con mayor frecuencia en los aislados obtenidos de colibacilosis que en los aislados provenientes de muestras fecales de aves sanas, lo cual demuestra que genes de virulencia con diferentes potenciales participan en la patogenia de la colibacilosis.

Experimento 3

Analizamos la capacidad de las bacterias portadoras de los genes *iss* y *iut A* para causar lesiones en pollos de 35 días de edad. En la Cuadro 1 observamos que cuando las cepas de *E. coli* presentaban los dos factores de virulencia se presentaron lesiones mayores y más severas, lo cual no se observaba cuando los genes actuaban individualmente.

Cuadro 1. Área de lesiones de celulitis en pollos después de la inoculación de *E. coli* con y sin los factores de virulencia *iss* y *iut A*.

Perfil de Virulencia	Área de Celulitis (cm ²)
<i>iss</i> + / <i>iut A</i> +	9.25
<i>iss</i> + / <i>iut A</i> -	5.96
<i>iss</i> - / <i>iut A</i> +	5.05
<i>iss</i> - / <i>iut A</i> -	2.76

Factores como el aumento de la ocurrencia de traumatismo, mayor densidad de población, retraso en el emplume, compactación de la cama, entre otros, están correlacionados con el aumento de lesiones de celulitis, los cuales cuando se comparan con las estirpes de pollos de engorde pueden causar más o menos lesiones de celulitis (Barnes *et al.*, 2003).



Experimento 4

Las dos estirpes demostraron lesiones de celulitis de intensidad similar cuando fueron desafiadas con alta o baja concentración de *E. coli*. Además fue posible observar linealidad en lo referente al área de las lesiones producidas cuando se disminuía la concentración del desafío (Cuadro 2).

Cuadro 2: Área promedio de las lesiones (cm²) de celulitis en las dos estirpes de aves sometidas a desafíos de diferentes concentraciones de *E. coli*.

Desafío	UFC/ml	ÁREA PROMEDIO DE LAS LESIONES (cm ²)	
		ROSS	COBB
Alto	10 ⁸	16.55	17.10
Bajo	10 ⁵	4.29	4.05

Conclusiones

Los modelos de reproducción experimental de la celulitis, desarrollados en este trabajo, permiten diferenciar la patogenicidad de las cepas de *E. coli* involucradas en casos de celulitis.

Los genes *iss* y *iut A*, sirven como marcadores moleculares de virulencia para muestras de *E. coli* que causan la celulitis. La asociación de estos dos genes promueve lesiones de mayor intensidad comprobando la característica multifactorial de esta patología.

No hubo diferencia significativa en la comparación de las dos estirpes de pollos de engorde en cuanto a la sensibilidad a lesiones de celulitis. Además existe una correlación entre la concentración bacteriana del desafío y el tamaño de la lesión en el ave.

Apoyo

Consejo Nacional de Desarrollo Científico y Tecnológico – Programa Rhae y Doux.

Bibliografía

- Barnes HJ, Vaillancourt JP, Gross WB. 2003. Colibacillosis. pp. 631-644. In: Diseases of poultry. Calnek BD (ed.). University Press, Ames, USA.
- Brito BG, Gaziri LCJ, Vidotto MC. 2003. Virulence factors and clonal relationships among *Escherichia coli* strains isolated from broiler chickens with cellulitis. *Infect. Immun.* 4175-4177.
- Delicato ER, Brito BG, Gaziri LCJ, Vidotto MC. 2003. Virulence-associated genes in *Escherichia coli* isolates from poultry with colibacillosis. *Vet. Microbiol.* 94(2):97-103.
- Fallavena LCB. 2000. Enfermidades da pele e das penas. pp. 239-252. In: Doenças das aves, Berchieri Júnior A & Macari M (eds.). FACTA. Campinas.