

Aislamientos de diferentes especies de hongos como causantes de micosis respiratorias en pollitos de un día de edad y su relación con infecciones por enterobacterias

M. GARCÍA, MARÍA J. ROJAS, VIRGINIA MASDEU,
ISIS ACOSTA, Y TAMARA REJO.

Laboratorios de Investigación y Diagnóstico Aviar
Instituto de Investigaciones Avícolas.
Gaveta postal 1, Cp. 17200. Santiago de las Vegas.
Ciudad de La Habana, Cuba
E- mail: viiacan@ceniai.inf.cu, Tel: 57-9034, Fax: 57-9080
<http://www.iaa.cu/>

RESUMEN. Entre las afecciones más importantes en pollitos de 1 día de edad se conocen las enfermedades micóticas respiratorias adquiridas en las plantas de incubación, producidas fundamentalmente por hongos del género *Aspergillus* y otros, estos hongos causan pérdidas económicas significativas por mortalidad, retardo en el crecimiento y además, son productores de micotoxinas y están asociados a inmunodeficiencia. El objetivo de este trabajo fue identificar las especies de hongos más frecuentemente aisladas a partir de muestras de pulmón de pollitos, analizando los resultados de laboratorio durante 3 años y relacionándolos con los aislamientos de enterobacterias. Para los aislamientos se utilizaron medios de agar Sabouraud sembrados con fragmentos de pulmón y luego incubados a temperatura ambiente por espacio de 5 a 7 días; la identificación se realizó por observación microscópica. Los aislamientos de enterobacterias se realizaron mediante siembras de muestras de hígado, corazón, bazo, médula ósea y saco vitelino en medios selectivos de agar. Se analizaron 2795 pollitos y se aislaron hongos en los pulmones en un 23% del total (643). Las especies significativamente más frecuentes fueron *Aspergillus flavus* y *Penicillium spp.* seguidos por *Aspergillus fumigatus* y *Aspergillus niger*. En el 70% de los pollitos aproximadamente (441/643) se encontraron micosis respiratorias y también se aislaron enterobacterias a partir de las vísceras, correspondiendo la mayor proporción a *Escherichia coli* (346 / 441); *Salmonellas spp.* (31/ 441) y otras enterobacterias (64/ 441) lo cual evidencia la relación que existe entre las enfermedades micóticas respiratorias y los estados de inmunosupresión.

La Aspergilosis es una enfermedad frecuente y costosa para la avicultura; varias especies de *Aspergillus* son comunes en pollitos. Se ha señalado al *Aspergillus fumigatus* como la especie más frecuentemente aislada, sin embargo, el *A. flavus* y otras especies también han sido informadas como causantes de la enfermedad (Richard, 1991); Kundtson y Meinecke, 1972; Kumble y Rimler, 1996; Sánchez, 1990).

El *A. fumigatus* es un hongo patógeno oportunista que contamina virtualmente cualquier ambiente y que adapta su crecimiento a diferentes substratos, sus esporas (conidias) permanecen viables en condiciones extremadamente adversas (Bardana, 1980).

Las aspergilosis en pollitos muy jóvenes están usualmente asociadas a una sobrexposición a gran número de conidias presentes en el alimento, yacijas o ambientes de las incuba-

doras altamente contaminados. Las conidias una vez inhaladas se depositan profundamente en el tracto respiratorio (Richard *et al.* 1984). La descripción de lesiones pulmonares al primer día posinoculación indica que las aspergilosis pulmonares se desarrollan rápidamente en las aves (Singh y Malhotra, 1979). Los *Aspergillus flavus* y los hongos del género *Penicillium* elaboran como productos secundarios de su metabolismo aflatoxinas y ochratoxinas cuya toxicidad ha sido demostrada en pollos y otras especies. (Huff, *et al.* 1992; Sánchez, (1990). El objetivo de este trabajo fue hacer un análisis estadístico de los aislamientos de varias especies de hongos a partir de muestras de pulmón de pollitos de un día de edad, y así establecer su relación con la presencia de enterobacterias .

MATERIALES Y METODOS

Se recopilaron durante 3 años muestras de pulmón de pollitos de 1 día de edad y se procesaron de acuerdo con los Procedimientos Normalizativos Operacionales (PNO) vigentes.

Los aislamientos de hongos se realizaron sembrando fragmentos de pulmón en medios de agar Sabouraud y luego de 5 días de incubación a temperatura ambiente se observaron las características macroscópicas de las colonias y se hicieron frotis para su identificación microscópica. Las enterobacterias fueron aisladas a partir de muestras de hígado, corazón, bazo, médula ósea y saco vitelino en medios de cultivo selectivos e identificadas con las pruebas bioquímicas establecidas para cada especie. Los datos fueron procesados estadísticamente mediante prueba de proporciones y análisis de varianza y la dócima de Duncan (1955) se aplicó cuando fue necesario.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En los años estudiados el aislamiento más frecuente (tabla 1) correspondió a la especie *Aspergillus flavus*. En segundo lugar el *Aspergillus fumigatus* y los hongos del género *Penicillium* y finalmente el *Aspergillus niger*.

TABLA 1. Aislamientos de hongos en muestras de pulmón en pollitos de 1 día.

AÑO		
ESPECIE	AISLAMIENTO	PROPORCIÓN
Penicillium spp.	212	0.32 b
<i>A. flavus.</i>	227	0.35a
<i>A. niger.</i>	111	0.17c
<i>A. fumigatus.</i>	93	0.14d
Total	643	
E.E.(%)	±0.85	

Letras desiguales difieren para $p \leq 0.001$. (Duncan, 1955)

Del 68% de los pollitos afectados de micosis respiratorias también se aislaron enterobacterias (tablas 2 y 3) a partir de vísceras correspondiendo a *E. coli* el mayor por ciento y frecuencia de aislamientos. Es conocido que las situaciones de estrés en ambientes confinados afectan el estado inmune. Silim y Rekik (1992) plantean por ejemplo que el calor excesivo en un ambiente húmedo inhibe la

respuesta inmune primaria y reduce la tasa de anticuerpos en los pollos aumentando la susceptibilidad de éstos a las enfermedades. Las aflatoxinas incrementan la susceptibilidad de las aves a las Salmonellas, la *E.coli*, la enfermedad de Marek, la enfermedad infecciosa de la bolsa y la propia Aspergilosis (Giambone, 1996) las micotoxinas son además neurotóxicas y hemotóxicas (Sánchez, 1990)..

TABLA 2. Por ciento de aislamientos de micosis respiratorias en los pollitos investigados

POLLITOS INVESTIGADOS	POSITIVOS A MICOSIS	POR CIENTO
2795	643	23.0

TABLA 3. Por cientos de aislamientos de enterobacterias en los pollitos afectados de micosis respiratorias

AISL. DE MICOSIS	AISL. DE ENTEROBACT.	E. COLI	SALMONELLA	OTRAS
643	441	346	31	64

CONCLUSIONES

Las especies de hongos más frecuentemente aisladas a partir de muestras de pulmón de pollitos de 1 día de edad fueron *Aspergillus flavus* y *Penicillium spp.* ambas productoras de micotoxinas y de carácter patógeno especialmente el *A. flavus*. El *Aspergillus fumigatus* reconocido como el responsable de la mayor parte de las aspergilosis fue sin embargo la especie menos frecuente en los años estudiados. De acuerdo con los resultados del presente trabajo aproximadamente

el 70% de las micosis respiratorias en pollitos van acompañadas de infecciones por enterobacterias, destacándose la presencia de *Escherichia coli* como el microorganismo más comúnmente aislado. Estos resultados confirman que las micosis tienen un efecto inmunosupresor e incrementan la susceptibilidad de las aves a las enfermedades por lo que se pone de manifiesto la importancia que tiene mantener un programa sanitario sistemático en las plantas de incubación, con medidas concretas para la reducción y eliminación de la contaminación por hongos.

Isolation of several fungi species in one-day-old chickens lungs samples and its relationship with enterobacterium infections

ABSTRACT. Respiratory fungi diseases are acquired at hatching time and produce an important economic loss by mortality, growing retardment and immunity damage. In the interest to identify the main fungi species isolated from lungs samples of one-day-old chickens during three years (1998-2000) and also to relate the mycological respiratory diseases with the enterobacterium infections we did the present work. For the fungi isolation were placed small lungs fragments in Dextrose Sabouraud agar plate culture, after five-seven days at ambient temperature, it were identified by way of naked eye observation as well as microscopic observation. In parallel we plate differential mediums from liver, spleen, heart, marrow bone and yolk sac samples. 643 over 2795 one-day-old chickens were affected by respiratory mycosis (23 %). The most frequently species isolated were *Aspergillus flavus* and *Penicillium spp.*, in second instance *Aspergillus fumigatus* and *Aspergillus niger*. Nearly 70 % of chickens affected (441/643) by mycological diseases also were affected by enteric bacterium, mainly *Escherichia coli* (346/441), *Salmonella spp.* (31/441) and others (64/441). It is an evidence relative to immunosuppressive effects of respiratory mycological diseases.

REFERENCIAS

- BARDANA, E. J. JR.; 1980. The clinical spectrum of Aspergillosis. Par 1: Epidemiology, Pathogenicity, infection in animals and Immunology of *Aspergillus*, Crit. Rev Clin. Lab. Sc., 13: 21-83.
- BARNES, A.J., AND D.W., DENNING; 1993. *Aspergillus* significance as pathogens. Rev. Med. Microbiol., 4: 176-180.

- GIAMBRONE, J. J.; 1996. Inmunosupresión, causas y prevención. *Avicultura Profesional*. 14(5): 42-45.
- HUFF, W. E.; M. D. RUFF, AND M. B. CHUTE. 1992. Characterization of the toxicity of the micotoxins: aflatoxin, ochratoxin and T-2 toxin in game birds. *Avian Diseases*. 36 (1): 30-33.
- KNUDTSON, W. V. AND C. F. MEINECKE. 1972. Pneumonic aspergillosis in poultz caused by *Aspergillus flavus*. *Avian Dis*, 16: 1130-1132.
- KUMBLE, R. A. AND R. B. RIMLER. 1996. Pathology of acute Aspergillosis in turkeys. *Avian Dis.*, 40, (4): 875-886.
- RICHARD, J. L.; J. R. THURSTON; W. M. PEDEN AND C. PINELLO. 1994. Recent studies on Aspergillosis in poultz. *Micopathologia* 87: 3-11.
- RICHARD, T. L. 1991, Aspergillosis in: *Diseases of Poultry*, 9TH ED. . B. W.B. CALNEK, H.J. BAMES; C.W. BEARD, W. M REID. AND J.R. H. W. YODER. Ed Iowa Estate University press, Ames, Iowa. p 326-324.
- SANCHEZ, A. 1990. Enfermedades de las aves Ed ENPES. La Habana. pag. 323-27.
- SILIM, A. AND R. M. REKIK ; 1992. Immunologie des oiseaux En: Manuel de pathologie aviaire. Jeanne Brugere et A. Silim. Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort et Faculté de méd. Vét. Montreal. Ed. Chaire de path. Méd du bétail et animaux de basse-cœur : 87-95.
- SINGH, J. AND F. C. MALHOTRA, 1979. Sequential gross and histopathological studies on Aspergillosis in chicks. *Indian J. Anim. Sci.*, 49: 562-568.