

# Desarrollo y resultados del Mapa Sanitario Dinámico de *Mycoplasma gallisepticum* en broilers de la Comunidad Valenciana durante 2009 y 2010

C. GARCÍA<sup>1</sup>, J.M. SORIANO<sup>2</sup>, V. BENÍTEZ<sup>1</sup>, A. L. TUDÓN<sup>1</sup>, C. SAN MÁXIMO<sup>1</sup>  
Y P. CATALÁ-GREGORI<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Centro de Calidad Avícola y Alimentación Animal de la Comunidad Valenciana CECAV, Alquerías del Niño Perdido (Castellón).

<sup>2</sup>Área de Nutrición y Bromatología. Facultad de Farmacia, Universidad de Valencia, Burjasot (Valencia).

\*direccion@cecav.es

---

## RESUMEN

Dentro de las micoplasmosis aviares, la infección producida por *Mycoplasma gallisepticum* (MG) es la más importante, causando principalmente trastornos respiratorios, depreciación de canales y pérdidas en la producción de carne y huevos. MG es un microorganismo pertenece al género *Mycoplasma*, clase *Mollicutes*, orden *Mycoplasmatales*, familia *Mycoplasmataceae*. Los signos clínicos de MG en aves de corral infectadas pueden variar de subclínicos a síntomas respiratorios como estornudos, conjuntivitis y tos. La morbilidad aumenta progresivamente hasta alcanzar el 100% de las aves después de varias semanas. La mortalidad suele ser de entre el 5% y el 20%.

En España no se vacuna contra la enfermedad en broilers. Una herramienta diagnóstica útil, sencilla y económica para evaluar el contacto con MG (y por lo tanto la presencia del mismo) es la serología. El ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay) es una de las más utilizadas para este fin.

En este trabajo se diseñó e implementó un Mapa Sanitario Dinámico de MG en broilers de la Comunidad Valenciana basado en Business Intelligence (inteligencia de negocio), de análisis dinámico y geográfico con cubos multidimensionales conteniendo la información sanitaria e integrando los títulos medios de MG existentes en las explotaciones de broilers de la Comunidad Valenciana. Esta herramienta es accesible vía web en tiempo real, con capacidad de análisis, generación de informes adaptados (tablas, gráficos y/o mapas), acceso seguro para los diferentes usuarios y permite definir capas geográficas de localización de las explotaciones con coordenadas y/o sistemas de delimitación de zonas de vigilancia/protección.

Para obtener los datos serológicos con los que alimentar los cubos, se analizaron 30 muestras de sangre de al menos 2 manadas de más de 30 días de cada explotación de broilers. En el periodo contemplado en este estudio (2 años) se analizaron un total de 7363 muestras (3813 en 2009 y 3550 en 2010). Para la determinación del título de anticuerpos frente a MG se empleó FlockCheck, un ELISA indirecto diseñado por IDEXX.

El resultado es un mapa de esta región en el que se representa gráficamente la presencia y evolución en tiempo real de anticuerpos frente al patógeno, teniendo en cuenta la distribución territorial y la evolución temporal. Este Mapa Sanitario Dinámico de MG en broilers constituye una herramienta de control de la enfermedad clave para los servicios técnicos veterinarios.

---

**Palabras clave:** broiler; ELISA; *Mycoplasma gallisepticum* (MG); Mapa Sanitario Dinámico; Comunidad Valenciana.

---

## ABSTRACT

Within avian mycoplasmosis, infection by *Mycoplasma gallisepticum* (MG) is the most important, causing mainly respiratory, carcass depreciation and losses in the production of meat and eggs. MG is a microorganism belonging to the genus *Mycoplasma*, class *Mollicutes*, order *Mycoplasmatales*, family *Mycoplasmataceae*. The clinical signs of MG in poultry can vary from subclinical infection to respiratory symptoms such as sneezing, conjunctivitis and cough. Morbidity increases progressively until it reaches 100% of the birds after several weeks. Mortality is usually between 5% and 20%.

In Spain, broilers are not routinely vaccinated against the disease. Due to the difficulty of isolating and identifying the MG, serology is the most commonly used method for diagnosis of infection. The most common method is the ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay).

In this study it was designed and implemented a Dynamic Health Map for MG broilers of Comunidad Valenciana based on Business Intelligence (BI). The analysis was dynamic and includes multidimensional cubes containing geographic information and integrate the results of existing MG in broiler farms in the Comunidad Valenciana. This tool is accessible via Web in real-time, with capacity for analysis, reporting (tables, graphs and /or maps), secure access for different users and allows to define layers and geographic location of farms with coordinates and/or zoning systems for monitoring/protection. To obtain the serological data to feed the cubes, we analyzed 30 blood samples from at least 2 batches of more than 30 days-old in broiler farms with most risk of infection. In the period covered by this study (2 years) a total of 7363 samples (3813 and 3550 in 2009 in 2010). For titer determination of antibodies against AI, FlockCheck was used, an indirect enzyme immunoassay ELISA designed by IDEXX.

The result is a map of the region with graphs representing the presence and real-time evolution of antibodies against the pathogen, taking into account the spatial distribution and temporal evolution. The Dynamic Health Map of MG for broilers is a tool for disease control for veterinary technical services.

---

**Keywords:** broiler; ELISA; *Mycoplasma gallisepticum* (MG); Dynamic Health Map; Comunidad Valenciana.

## INTRODUCCIÓN

*Mycoplasma gallisepticum* (MG) pertenece al género *Mycoplasma*, clase *Mollicutes*, orden *Mycoplasmatales*, familia *Mycoplasmataceae*. Es particularmente importante en pollos y pavos como causa de enfermedad respiratoria y del descenso de la producción de carne y de huevos (Bradbury *et al.*, 2001; Pillai *et al.*, 2003). En aves de corral, la infección se transmite verticalmente a través de los huevos infectados y horizontalmente por contacto entre las aves, por aspiración del polvo contaminado, el agua de bebida, los utensilios contaminados y a través de los intermediarios como el hombre (Marois *et al.*, 2002). El periodo de incubación en condiciones experimentales puede variar de 6 a 21 días, pero aparentemente es bastante difícil determinar el momento preciso de infección en condiciones naturales; las aves infectadas pueden ser asintomáticas durante varios días o meses hasta que sufren estrés (Dingfelder *et al.*, 1991)

Los signos clínicos de MG en aves de corral infectadas pueden variar de subclínicos a síntomas respiratorios obvios como estornudos, conjuntivitis y tos (Pillai *et al.*, 2003). Puede aparecer exudación nasal, estertores traqueales y soplos a través del pico parcialmente abierto. También puede ser característica una sinusitis unilateral o bilateral, particularmente en pavos y aves de caza, y los senos infraorbitales pueden presentarse tan inflamados que los párpados llegan a cerrarse. La conjuntivitis con exudado ocular espumoso es también una característica común en pavos y aves de caza, y a veces en pollos. Los pavos se manchan las plumas de las alas con frecuencia como resultado de los intentos de eliminar el exudado de los ojos.

La gravedad de la enfermedad está muy condicionada por el grado de la infección secundaria con virus tales como el de la enfermedad de Newcastle y el de la bronquitis infecciosa, y con bacterias tales como *Escherichia coli* (Gross, 1990; Fischer *et al.*, 1997).

Una herramienta diagnóstica útil, sencilla y económica para evaluar el contacto con el patógeno (y por lo tanto la presencia del mismo) es la serología. La elaboración de Mapas Sanitarios Dinámicos permite monitorizar la presencia, la distribución y la evolución de las enfermedades animales a lo largo del tiempo y el espacio. Por ello, la realización de estos mapas con una cierta frecuencia, permitirá conocer el

comportamiento de estos procesos ligados a otros factores de riesgo como son movimientos de aves, tanto comerciales de aves domésticas como de las aves salvajes, ya sean migratorias o residentes, evolución de la climatología o factores ecológicos. El conocimiento de estos parámetros epidemiológicos por los técnicos veterinarios contribuye a controlar la enfermedad, y por tanto, a minimizar su incidencia.

Hasta ahora, la Asociación Avícola Valenciana realizaba con periodicidad semestral los Mapas Sanitarios Avícolas en la Comunidad Valenciana. En este trabajo se ha desarrollado una aplicación informática de análisis dinámico y geográfico sobre información sanitaria para integrar la información analítica sobre MG existente en la Comunidad Valenciana. Integra la preparación de informes sobre los resultados de análisis, dispone de una herramienta potente de exploración y análisis de la información de MG y dispone una herramienta de visualización geográfica de los resultados por comarcas que permite poder tomar decisiones con eficacia y analizar la situación sanitaria avícola. El resultado es un mapa de la Comunidad Valenciana en el que se representa gráficamente la presencia y evolución en tiempo real de anticuerpos frente al patógeno, teniendo en cuenta la distribución territorial y la evolución temporal. Este Mapa Sanitario Dinámico de MG en broilers constituye una herramienta pionera de control de la enfermedad clave para los servicios técnicos veterinarios.

## MATERIAL Y MÉTODOS

El estudio se realizó en explotaciones avícolas de broilers ubicadas en la Comunidad Valenciana (España).

En una primera parte, describiremos la aplicación informática generada para este trabajo, y posteriormente definiremos los análisis serológicos asociados realizados.

La herramienta informática desarrollada para este trabajo constó de tres grandes fases: obtención de datos, análisis de datos y representación de datos.

### **Obtención de datos**

Los procesos de Extraer, Transformar y Cargar (*Extract, Transform and Load*; ETL) permitieron obtener datos desde múltiples orígenes diferentes para cargarlos en otra base de datos y ser analizados en otro sistema operacional. Así, se integraron, para este trabajo, datos de ORACLE, Excel e xChek.

### **Análisis de datos**

Se desarrolló una aplicación informática denominada Procesamiento Analítico en Línea (*On-Line Analytical Processing*; OLAP) de análisis dinámico y geográfico con cubos multidimensionales conteniendo la información sanitaria e integrando los títulos de MG existentes en las explotaciones de broilers de la Comunidad Valenciana. Un cubo es una base de datos multidimensional, en la cual el almacenamiento físico de los datos se realiza en un vector multidimensional. Se pueden considerar los cubos OLAP como una ampliación de las dos dimensiones de una hoja de cálculo, en los que puede haber más de tres dimensiones, llamándose también hipercubos.

### **Representación de datos**

Una vez obtenidos los datos mediante los procesos ETL y analizados mediante la herramienta OLAP, el siguiente paso fue representar geográficamente los mismos. Así, se integró un sistema de información geográfica (*Geographic Information System*; GIS) con un servidor de *Open Source*, denominado *GeoServer*. Esta herramienta genera una serie de capas de información geográfica, como son las comunidades, provincias, comarcas o municipios. Se asoció los datos de cada muestra a los códigos identificativos de cada región; contenidos en el código de Registro General de Explotaciones Ganaderas (REGA) de cada explotación, estableciendo así la relación entre GIS y OLAP. De este modo, se catalogaron los datos por zonas mediante semaforización por colores y mostrando los valores de cada zona al pinchar sobre la misma.

En el periodo contemplado en este estudio (2 años) se analizaron un total de 7363 muestras (3813 en 2009 y 3550 en 2010), de un total de 189 explotaciones en 2009 y 193 en 2010, de broilers

de animales de más de 30 días, a razón de 30 sueros provenientes de al menos 2 manadas. Se realizó una punción con una aguja o bisturí en la vena braquial, recogiendo la sangre en un tubo de vidrio de 5 mL con tapón a presión (un tubo por animal) hasta conseguir aproximadamente 3 mL de muestra. Los tubos se mantuvieron horizontales y a temperatura ambiente hasta la formación del coágulo, para ser posteriormente refrigerados hasta su llegada al laboratorio.

Una vez en el laboratorio, las muestras se registraron utilizando el programa ORALIMS (Nobel Biocare AB, Goteberg, Sweden); un programa basado en ORACLE. A cada lote de 15 sueros se le asignó un número de registro para mantener la trazabilidad a lo largo de todo el proceso de análisis y evaluación de los resultados. Las muestras se centrifugaron a 2500 rpm durante 5 minutos. Los glóbulos rojos se depositaron en el fondo del tubo y el suero quedó en la parte superior. Se recogió unos 250  $\mu$ L de cada suero en placas de 96 pocillos, que se identificaron con el número de registro correspondiente.

Para el análisis se utilizó FlockChek MG, un ensayo inmunoenzimático de IDEXX diseñado para la detección de anticuerpos frente a MG en sueros. Se utilizaron placas de 96 pocillos tapizadas con antígeno. Se diluyó las muestras 1:500 (dilución intermedia 1:25, seguido de dilución en la placa tapizada de 1:20) con el diluyente de muestras antes de efectuar la prueba. Los controles no se diluyeron. Se cambiaron las puntas de las pipetas cada vez que se tomó una muestra. Se mezcló bien las muestras antes de agregarlas a la placa tapizada con antígeno MG. Previo al análisis, se dejó atemperar los reactivos del kit (20-27°C) y luego, se agitaron suavemente por inversión y con movimiento circular. El primer paso consistió en el vertido de 100 $\mu$ L de control negativo no diluido en los pocillos A1 y A2, y 100 $\mu$ L de control positivo no diluido en los pocillos A3 y A4. Posteriormente, se vertieron 100 $\mu$ L de muestra diluida en los pocillos correspondientes. La placa se incubó durante 30 minutos a temperatura ambiente. Transcurrido este tiempo, se aspiró el contenido líquido de todos los pocillos y se lavó con 350  $\mu$ L de agua destilada o desionizada. Se aspiró completamente y se vertieron 100  $\mu$ L de conjugado (de cabra) anti-pollo (peroxidasa de rábano) a cada pocillo. Se incubó durante 30 minutos a temperatura ambiente. El lavado se repitió de 3 a 5 veces. Se vertió 100 $\mu$ L de la solución de sustrato TMB en cada pocillo. Se incubó durante 15 minutos a temperatura ambiente. Se vertió 100  $\mu$ L de la solución de frenado en cada pocillo para terminar la reacción. Finalmente, se calibró el lector en blanco con aire y se midió los valores de absorbancia a 650 nm.

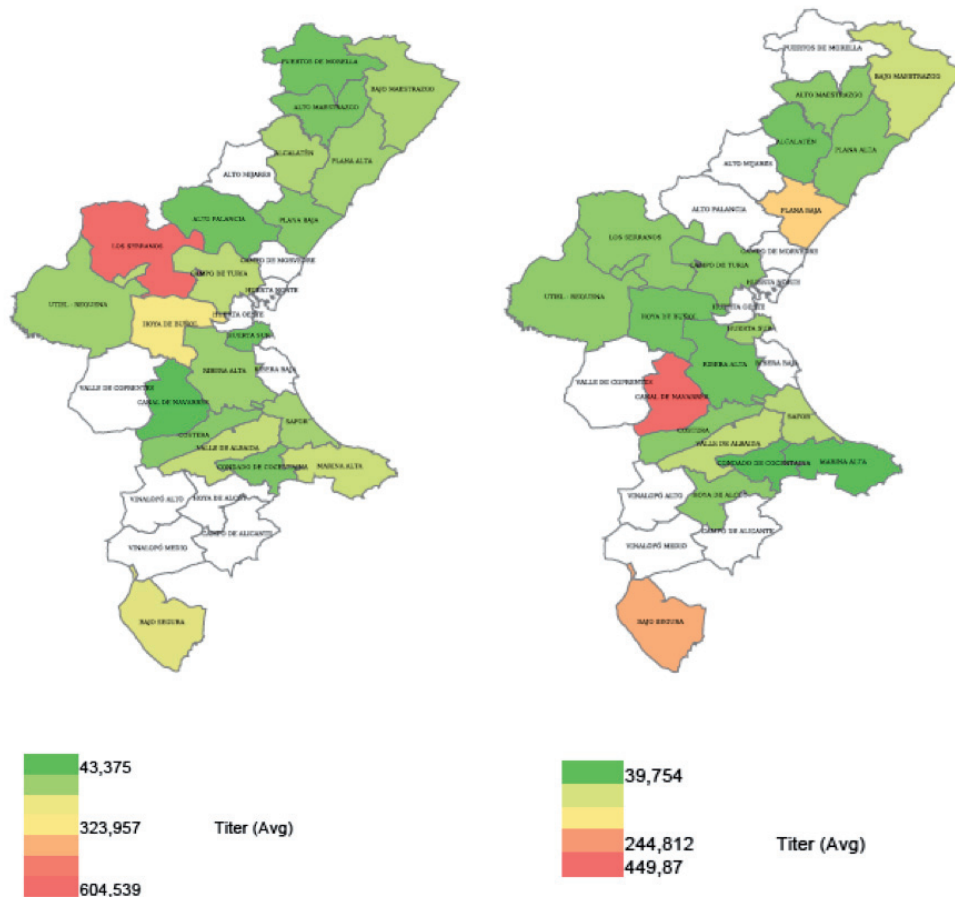
## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La monitorización del estado sanitario de las explotaciones de broilers constituye una herramienta de control de la enfermedad clave para los servicios técnicos veterinarios.

En este trabajo se diseñó e implementó un Mapa Sanitario Dinámico en tiempo real de MG en broilers de la Comunidad Valenciana accesible vía web, con el fin de evaluar la situación de la enfermedad en este territorio. Para ello, se utilizó una aplicación informática OLAP de análisis dinámico y geográfico con cubos multidimensionales conteniendo la información sanitaria e integrando los títulos de MG existentes en las explotaciones de broilers de la Comunidad Valenciana, elaborada por LiteBI ([www.litebi.com](http://www.litebi.com)).

Utilizando la herramienta informática descrita, se han obtenido los mapas sanitarios de MG de broilers en explotaciones de la Comunidad Valenciana durante 2009 y 2010 (Figura 1).

**Figura 1. De izquierda a derecha: Mapa Sanitario de MG en broilers de la Comunidad Valenciana en 2009 y 2010**



Se muestrearon los animales con edad superior a 30 días siendo la edad media de muestreo en este estudio de 41.73 días con una SD de 7.29 en 2009 y de 42 días con una SD de 7.79 en 2010.

En estos mapas se visualiza geográficamente los resultados de títulos medios obtenidos por la técnica de ELISA, representando en verde los títulos más bajos, en rojo los más altos y en amarillo los valores intermedios, todos ellos agrupados por Comarcas, como unidad geográfica. Este código de colores es dependiente de los valores obtenidos en el periodo analizado. Así, se puede comparar respuestas humorales frente a MG para ese periodo en regiones geográficas diferentes, delimitando posibles presiones de infección. En contrapartida, esta codificación no permite comparar a simple vista dos o más periodos analizados, ya que los códigos de colores son dependientes de los valores obtenidos en dicho periodo. En ese caso, el valor absoluto de respuesta humoral es el dato a comparar, y no el color asignado.

En 2009 y 2010 se analizaron un total de 3813 y 3550 sueros provenientes de 189 y 193 explotaciones. En la tabla 1 se indican las comarcas de la Comunidad Valenciana y para cada una se señala el número de muestras analizadas, título medio, título máximo y nº de explotaciones de cada comarca.

En 2009, el título medio más alto de 604 se detectó en la Comarca de Los Serranos. En 2010, el título medio más alto analizado fue de 450 (Canal de Navarrés). EL título máximo se obtuvo en el Bajo Maeztrasgo, con título de 11.918 en 2009 y 7.295 en 2010, indicando una mayor presión de infección en esa zona, para el periodo analizado.

**Tabla 1. Comarcas de la Comunidad Valenciana:  
Número de muestras, título medio, título máximo y número de explotaciones**

COMARCA	Nº muestras		Título medio		Título máximo		Nº explotaciones	
	2009	2010	2009	2010	2009	2010	2009	2010
Alcalatén	75	72	205	79	897	664	4	4
Alto Maestrazgo	196	166	111	114	1589	865	11	11
Alto Palancia	15		86		184		1	
Bajo Maestrazgo	582	588	195	193	11918	7295	34	34
Bajo Segura	15	15	282	328	890	1142	1	1
Campo de Turia	44	31	226	112	881	552	2	1
Canal de Navarrés	16	46	43	450	132	2805	1	2
Condado de Cocentaina	200	126	116	40	1076	853	11	9
Costera	30	15	136	110	1039	1004	1	1
Hoya de Alcoy		15		113		371		1
Hoya de Buñol	35	42	313	77	1835	394	2	3
Huerta Sur	16	16	90	139	292	528	1	1
Los Serranos	167	105	605	117	7394	1013	8	6
Marina Alta	11	40	246	40	377	307	1	3
Plana Alta	669	684	179	105	3262	3970	41	43
Plana Baja	60	75	135	275	918	5553	3	4
Puertos de Morella	75		87		298		3	
Ribera Alta	153	119	172	72	1411	911	7	6
Safor	409	294	187	168	3006	1936	22	20
Utiel - Requena	576	665	176	118	2018	1821	9	15
Valle de Albaida	469	436	237	178	3766	1845	26	28

La interpretación para la orientación productiva de broilers utilizando el kit de MG de Idexx se refleja en la tabla 2.

**Tabla 2. Títulos de referencia para MG de Idexx**

Tipo de ave	Título	Interpretación
Broilers >30 días	<500	No vacunados, no infectados
	>500	Contacto con patógeno de campo/infección de campo

El usuario puede filtrar estos resultados por varias métricas, como puede ser métricas temporales: año, trimestre, mes o día, o métricas geográficas: provincia, comarca o municipio.

Si apareciera un foco, sería necesario evitar la propagación de la infección mediante un seguimiento cuidadoso y limitando los movimientos de las aves y el uso de productos que pudieran estar contaminados, reforzando las medidas de bioseguridad a todos los niveles de la producción avícola, mediante la limpieza y desinfección de las instalaciones infectadas, el establecimiento de zonas de vigilancia y de protección alrededor del foco y, en caso necesario, recurriendo a la vacunación. Esta herramienta informática es capaz de incluir capas geográficas de localización de las explotaciones con coordenadas y/o sistemas de delimitación de zonas de vigilancia/protección en el caso de aparición de focos confirmados de enfermedad.

## AGRADECIMIENTOS

La Fundación de la Comunidad Valenciana para la Investigación Agroalimentaria (Fundación Agroalimed) ha financiado este trabajo. La Asociación Avícola Valenciana (ASAV) ha colaborado en la realización de este estudio.

---

## REFERENCIAS

**BRADBURY, J.M., YAVARI, C.A. and DARE, C.M.** (2001) Detection of *Mycoplasma synoviae* in clinically normal pheasants. *Vet Rec.* 148:72-4.

**MAROIS, C., DUFOUR-GESBERT, F. and KEMPF, I.** (2002) Polymerase chain reaction for detection of *Mycoplasma gallisepticum* in environmental samples. *Avian Pathol.*31:163-8.

**GROSS, W.B.** (1990) Factors affecting the development of respiratory disease complex in chickens. *Avian Dis.* 34:607-10.

**FISCHER, J.R., STALLKNECHT, D.E., LUTTRELL, P., DHONDT, A.A. and CONVERSE, K.A.** (1997) Mycoplasmal conjunctivitis in wild songbirds: the spread of a new contagious disease in a mobile host population. *Emerg Infect Dis.* 3:69-72

**DINGFELDER, R.S., LEY, D.H., MCLAREN, J.M. and BROWNIE, C.** (1991) Experimental infection of turkeys with *Mycoplasma gallisepticum* of low virulence, transmissibility, and immunogenicity. *Avian Dis.* 35:910-9.

**PILLAI, S.R., MAYS, H.L. JR, LEY, D.H., LUTTRELL, P., PANANGALA, V.S., FARMER, K.L. and ROBERTS, S.R.** (2003) Molecular variability of house finch *Mycoplasma gallisepticum* isolates as revealed by sequencing and restriction fragment length polymorphism analysis of the *pvpA* gene. *Avian Dis.*47:640-8.