

Vacunas contra *Mycoplasma gallisepticum* (Vaccines against *Mycoplasma gallisepticum*)

Pérez B., Tania; Rosado R., Ileana y Sánchez M., Lilian.

Centro Nacional de Sanidad Agropecuaria (CENSA) Carretera de Jamaica y Autopista Nacional. Apartado 10 San José de Las Lajas. La Habana, Cuba. Tel. (+53-47) 86 3653, fax (+53-47) 86 3206. E-mail: bueno@censa.edu.cu

Resumen

En el presente trabajo se realiza una revisión sobre aspectos generales relacionados con los micoplasmas, sus requerimientos nutricionales y medios de cultivo para su crecimiento, se aborda sobre la micoplasmosis de las aves, específicamente *Mycoplasma gallisepticum* en cuanto a su diagnóstico y control referido al empleo de vacunas. Se discute sobre las ventajas y desventajas en el empleo de vacunas vivas o bacterinas y las nuevas propuestas en el desarrollo de vacunas.

Palabras clave: Micoplasmosis aviar; *Mycoplasma gallisepticum*; bacterinas; vacunas inactivadas; vacunas vivas

Abstract

The present work is about general aspects related with mycoplasmas, their nutritional requirements and culture media for growth. The article gives a bibliographic overview in relation to *Mycoplasma gallisepticum* diagnostic and its control by vaccines. The advantages and disadvantages of bacterins and live vaccines are also explained.

Key words: Avian mycoplasmoses; *Mycoplasma gallisepticum*; bacterins; inactivated vaccines; live vaccines

1. Generalidades de los micoplasmas

1.1. Breve reseña histórica

Micoplasma es el nombre trivial dado a las células procariotas más pequeñas y simples capaces de replicarse de forma autonómica, pertenecientes a la clase Mollicutes, la cual está integrada por más de 100 especies (Tully, 1992). Fueron descubiertos en 1898 al estudiar el líquido pleural de bovinos que sufrían la enfermedad denominada pleuropneumonía, por lo que durante años se conocieron con el nombre de organismos semejantes a los de la pleuropneumonía o PPLO (Tully, 1995).

Inicialmente fueron considerados como virus, ya que de manera general son capaces de atravesar filtros de 0,45 μm que retienen el paso de las bacterias ordinarias, pero en 1930 al quedar establecida la verdadera naturaleza de los agentes virales, resultó evidente que los micoplasmas no podían ser considerados como tales, ya que presentan ambos tipos de ácidos nucleicos, crecen en medios artificiales y se dividen por fisión binaria al igual que las bacterias (Tully, 1992; Kempf, 1993).

En 1935, con el aislamiento de las formas L de bacterias, se consideró que estas eran micoplasmas viviendo en simbiosis con la bacteria, y tomó años en corregir esta falsa concepción puesto que se requería avances en el conocimiento de la estructura, composición y biosíntesis de la pared celular bacteriana. A finales de 1950, se definió a las formas L como bacterias que habían perdido parcialmente o enteramente su pared celular. Desafortunadamente el esclarecimiento de la naturaleza de las formas L incrementó la confusión con respecto a la identidad de los micoplasmas. Con el descubrimiento de que las bacterias ordinarias pueden ser inducidas a crecer como formas L estables desprovistas de pared celular y morfológicamente parecidas a micoplasmas, estos fueron considerados entonces formas L estables de bacterias comunes (Razin y col., 1998).

No fue hasta la década de los 60 cuando Neumark planteó la teoría de que los micoplasmas se originaron de bacterias con pared celular y que por evolución degenerativa perdieron los genes necesarios para la síntesis de la pared celular, reparación de ADN y síntesis de aminoácidos, ácidos grasos y lípidos, de ahí sus complejos requerimientos nutricionales y nichos ecológicos (Levisohn, 1992).

Actualmente se conoce que los micoplasmas no poseen pared celular, característica que los distingue del resto de los procariontes, les confiere un marcado pleomorfismo y completa resistencia a los antibióticos que degradan o inhiben la síntesis del péptidoglicano. En su lugar están rodeados por una membrana plasmática, lo que hace que estos microorganismos sean muy sensibles a los daños por parte de sustancias a nivel de superficie, a las variaciones de presión osmótica del medio provocando la lisis por choques osmóticos, a variaciones de temperatura y pH (Kempf, 1993; Kleven, 1998).

1.2. Morfología y tamaño

La morfología de la mayoría de las especies de la clase Mollicutes es esférica; generalmente miden de 0,3 a 0,8 μm de diámetro, lo que los sitúa en el límite de resolución del microscopio óptico (Tully, 1992; Kempf, 1993). Sin embargo muchos exhiben una variedad de morfologías que incluyen células en forma de pera, de botella con una estructura terminal en forma de punta, filamentos de varios tamaños y filamentos helicoidales (Razin, 1995).

1.3. Biología Molecular

Los micoplasmas presentan un genoma muy pequeño, su información genética constituye un quinto del número de genes de *Escherichia coli* y un medio del genoma de *Rickettsia* spp, esto explica el bajo contenido de proteínas presentes en estos microorganismos y su limitada actividad metabólica y enzimática (Razin, 1995).

1.4. Distribución de los micoplasmas

Los micoplasmas se encuentran ampliamente distribuidos en la naturaleza como parásitos de humanos, mamíferos, reptiles, peces, artrópodos y plantas. Los hábitat primarios de los micoplasmas que afectan al hombre y a los animales son las superficies mucosales de los tractos respiratorios y urogenital, los ojos, el canal alimentario, las glándulas mamarias y las articulaciones (Razin, 1992). Algunas especies presentan localización intracelular (Lo, 1992; Lo y col., 1993).

1.5. Taxonomía

La descripción y caracterización taxonómica actual coloca a los micoplasmas en el reino Procariote, división Tenericutes, término que indica la ausencia de una pared celular rígida, y en la clase Mollicutes, del latín: Mollis-blando y cutis-piel. Esta clase esta subdividida en cuatro órdenes o entidades taxonómicas de acuerdo a sus requerimientos nutricionales, propiedades genéticas y biológicas así como la distribución del hospedero (Razin y col., 1998).

Las especies de micoplasma se encuentran en el orden Mycoplasmatales, el cual contiene sólo una familia, la Mycoplasmataceae, subdividida en dos géneros *Mycoplasma* y *Ureaplasma*. El primero es el mayor dentro de la clase Mollicutes, comprende 102 especies reconocidas, 4 especies con nombres ilegítimos, una especie en estatus de candidato, tres subespecies y 4 mollicutes haemotróficos (Johansson y col., 2000).

1.6. Cultivo y crecimiento de los micoplasmas

1.6.1 Requerimientos nutricionales

Los micoplasmas son definidos como microorganismos nutricionalmente exigentes, ya que requieren suministros de gran cantidad de precursores de ácidos nucleicos y aminoácidos para llevar a cabo exitosamente la síntesis de macromoléculas, variadas vitaminas y otros factores de crecimiento para su síntesis macromolecular. Al carecer de enzimas para la síntesis de ácidos grasos vía Acetil-Co-A dependen también de ácidos grasos y colesterol exógeno para la síntesis de la membrana celular. (Tully, 1992; Miles, 1992).

Sus exigencias nutricionales y su dificultad de cultivo in vitro hacen que sólo una minoría de los micoplasmas que existen en la naturaleza se hayan cultivado, que su crecimiento sea lento y pobre en los mejores medios de cultivo disponibles (Razin y col., 1998) y que sólo

pocas especies de éstos se desarrollen en medios completamente definidos.

Una de las mayores dificultades para el uso de medios definidos es la demanda de lípidos no tóxicos para el crecimiento y la síntesis de la membrana de los micoplasmas, pues la gran mayoría requieren colesterol y esterol que usualmente se brinda a través del suero animal (Razin y col., 1998). No obstante se hacen algunos intentos para su sustitución, como por ejemplo, Cluss y Somersom (1986) lograron reemplazar el suero animal por liposomas para el crecimiento de *M. gallisepticum*, sin embargo necesitaron adicionar albúmina de suero (BSA) para obtener mejores rendimientos, ya que la BSA realiza el intercambio de colesterol entre las células y las vesículas de fosfatidilcolina y colesterol. Por otra parte, para reemplazar la BSA, Greenberg y col. (1993) propusieron el uso de ciclodextrinas como transportadores de colesterol y ácidos grasos. Por otra parte, Le Grimellec y col. (1981) lograron adaptar el crecimiento de *M. gallisepticum* a bajas concentraciones de colesterol, disminuyendo considerablemente el esterol de la membrana pero esta adaptación estuvo asociada a un incremento del tiempo generacional y una reducción del rendimiento celular.

Existen pocos estudios sobre la utilización de carbohidratos por micoplasmas, pero se conoce que la glucosa además de constituir la fuente de energía es utilizada en la síntesis de otros azúcares y polisacáridos (Miles, 1992). Así, Miles y col. (1986) demostraron que el crecimiento de *M. mycoides*, en medio con suero, se vio marcadamente afectado por la naturaleza de la fuente de azúcar, obteniendo con la glucosa crecimientos superiores a los alcanzados con otros azúcares. Posteriormente Miles y col. (1988) reemplazaron, en medio definido, la glucosa por otros azúcares y hasta por piruvato, pero con estos componentes el crecimiento microbiano y la velocidad de crecimiento disminuyeron.

Mientras que los requerimientos inorgánicos de las bacterias están ampliamente estudiados, en los micoplasmas existen pocos estudios al respecto (Chang, 1986). Los componentes inorgánicos que deben estar de forma general presentes en los medios son: P, Mg^{2+} , K^+ y Fe^{2+} , este último en muy bajas concentraciones, pues altas concentraciones de iones metálicos divalentes como Fe^{2+} , Zn^{2+} , Mn^{2+} y Co^{2+} pueden inhibir el crecimiento; también se conoce que altas concentraciones de sales inorgánicas pueden afectar indirectamente el crecimiento celular por su contribución negativa a la tonicidad del medio (Rodwell, 1983).

1.6.2 Requerimientos físicos

Gardella y Del Guidice (1983) determinaron la temperatura óptima y las condiciones de crecimiento de algunas especies de micoplasmas, en este caso, la temperatura óptima para *M. gallisepticum* es de 37-38 °C y el pH óptimo está en el rango de 7,8-8,0; este estrecho rango de pH trae como consecuencia la inhibición del crecimiento en medios de cultivo producto de la excesiva cantidad de ácido generado por la fermentación de la glucosa.

1.6.3. Requerimientos atmosféricos

Los requerimientos atmosféricos no se pueden ver como una variable independiente y si en interacción con otros factores como pH, composición del medio de cultivo y humedad para el crecimiento en placas de agar (Gardella y Del Guidice, 1983).

Pérez B., Tania; Rosado R., Ileana y Sánchez M., Lilian. **Vacunas contra *Mycoplasma gallisepticum***. *Revista Electrónica de Veterinaria REDVET*®, ISSN 1695-7504, Vol. VII, nº 10, Octubre/2006, [Veterinaria.org](http://www.veterinaria.org)® - [Comunidad Virtual Veterinaria.org](http://www.veterinaria.org)® - Veterinaria Organización S.L.® España. Mensual. Disponible en <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet> y más específicamente en <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n101006.html>

La mayoría de los micoplasmas son anaerobios facultativos, creciendo en ambientes anaerobios o aerobios. En determinados casos el oxígeno puede impedir el crecimiento debido al agotamiento del potencial reductor celular, las células pueden morir como resultado de la formación de peróxido de hidrógeno (H_2O_2) y de otros intermediarios activos del oxígeno incluyendo el superóxido (O_2^-) (Miles y col., 1991) y en otros puede estimular la velocidad de crecimiento puesto que aumenta el rendimiento de ATP generado durante el metabolismo de la glucosa (Miles, 1992).

En este sentido, Miles (1992) recoge el criterio de varios autores quienes lograron aumentar la velocidad de crecimiento y el rendimiento celular de algunas especies de micoplasmas con el empleo de una leve agitación-aireación, evitando la formación de vórtice en los cultivos pues los esfuerzos cortantes producidos pueden inhibir el crecimiento de los micoplasmas.

Para el crecimiento en placas de agar, los cultivos deben incubarse en microaerofilia, en una atmósfera constituida por una mezcla de 5% de dióxido de carbono (CO_2) en nitrógeno (N_2) de 2-6 días dependiendo de la cepa en cuestión (Razin, 1983).

1.6.4. Medios de cultivo

Los factores que limitan el crecimiento y el rendimiento celular en los medios indefinidos es amplio, debido en primer lugar a la diversidad de nutrientes y en segundo a que éstos pueden estar disponibles en el medio de una forma no asimilada por el microorganismo, por lo que en la gran mayoría de las especies de micoplasmas las condiciones físicas y atmosféricas para el crecimiento no se han determinado (Miles, 1992). Además, existe una inherente variación en los componentes naturales presentes en estos medios (suero, carne y extracto de levadura), particularmente el suero animal puede variar su capacidad para promover el crecimiento en dependencia del animal del que se haya obtenido y algunas veces varía en el mismo animal cuando es extraído en diferentes tiempos (Freundt, 1983).

La necesidad de utilizar medios de crecimiento complejos para el crecimiento de los micoplasmas interfiere en la definición molecular de las vías metabólicas, análisis genético y en la preparación de antígenos de micoplasmas libres de componentes del suero (Razin y col., 1998); mientras que el empleo de medios definidos posibilita precisar el rol y efecto de cada nutriente individual en el rendimiento celular, velocidad de crecimiento, morfología y formación de productos tóxicos como el H_2O_2 ; evita la variabilidad de los componentes del medio y permite el control de estos a través de estudios de optimización (Miles, 1992).

A pesar de estas ventajas, en la actualidad, se continúan empleando medios indefinidos tanto para el aislamiento de los micoplasmas, obtención de antígenos y producción de vacunas.

Generalmente estas formulaciones contienen un caldo base compuesto por una infusión de carne corazón, peptona, triptona u otros ingredientes que suplan aminoácidos y proteínas, y un suplemento constituido por extracto de levadura, suero animal (equino o porcino fundamentalmente como fuente de colesterol) o una fracción de suero y glucosa en el caso

de *M. gallisepticum*, arginina o urea como aporte energético, además de cloruro de sodio (Tully, 1992); aunque algunos autores han logrado crecer especies de micoplasmas en medios que sólo contienen una peptona y el suplemento (Storm, 1995).

El extracto de levadura brinda un suplemento de vitaminas y factores de crecimiento. El suero utilizado (puede ser de cerdo o de caballo) aporta una fuente no tóxica de lípidos, además de un rango de otros nutrientes incluyendo iones inorgánicos, azúcares y urea; éste puede emplearse de 5-20% (v/v), después de ser calentado a 56°C por 30 minutos para inactivar anticuerpos que estén presentes en el suero animal (Miles, 1992).

El cloruro de sodio aumenta la tonicidad del medio de cultivo. También se recomienda el empleo de hidrocloreto de L-cisteína que actúa como agente reductor disminuyendo el potencial de oxidación reducción del medio de cultivo, haciendo éste más adecuado para el crecimiento de organismos anaerobios o microaerófilos (Rodwell, 1983).

Por último es necesario adicionar al medio de cultivo agentes antibacterianos para prevenir la contaminación, los más utilizados son la penicilina (para microorganismos Gram positivos) y el acetato de talio (para microorganismos Gram negativos) (Kleven y Yoder, 1989).

2. Micoplasmosis de las aves

El término micoplasmosis aviar es frecuentemente utilizado en la literatura para describir las enfermedades de pollos y pavos causadas por diferentes especies de micoplasmas. Más de doce especies de micoplasmas conocidos afectan a estos tipos de aves y de estos, los más importantes resultan *Mycoplasma iowae*, que es la principal causa de mortalidad embrionaria en pavos (Kleven y Baxter-Jones, 1997); *Mycoplasma meleagridis*, que causa infección respiratoria, anomalías esqueléticas y afectaciones del crecimiento en pavos (Yamamoto y Ghazikhanain, 1997); *Mycoplasma synoviae* que puede causar enfermedades respiratorias o sinovitis en pollos (Kleven, 1997) y *M. gallisepticum*, considerado como la causa primaria de la enfermedad respiratoria crónica de los pollos (Ley y Yoder, 1997). Otros micoplasmas aviares pueden exhibir patogenicidad bajo ciertas circunstancias, ejemplo, *M. pullorum* (Kempf, 1997; Lobo, 2000).

2.1. Situación internacional

A pesar del esfuerzo realizado por las compañías internacionales dedicadas a la industria avícola para erradicar las infecciones por micoplasmas, la incidencia de la infección por este microorganismo está favorecida por la intensificación de la producción actual; la existencia de áreas geográficas con poblaciones avícolas muy densas hace el control de *M. gallisepticum* muy difícil. Además, el auge de las granjas de edades múltiples trae como consecuencia que una vez que ocurra la infección por este microorganismo en las granjas, éste cicle y se establezca de manera permanente (Kleven, 1998a).

La infección causada por *M. gallisepticum* es considerada un importante problema en pollos de ceba, reproductoras y ponedoras comerciales. Las pérdidas económicas asociadas a la

enfermedad respiratoria crónica son significativas. Se reporta que en pollos de ceba hay una reducción en la ganancia de peso superior a un 20-30 %, la eficacia de la conversión alimentaria disminuye entre un 10-20 %, el grado de mortalidad por esta causa está entre un 5-10 % y de un 10-20 % de las aves es desechado en las plantas de procesamiento. En reproductoras y ponedoras la enfermedad causa de un 10-20 % de disminución en la puesta de huevos (aproximadamente 16 huevos menos por gallina) e incrementa de un 5-10 % la mortalidad embrionaria (Stipkovits y Kempf, 1996; Patala, 2000).

En Cuba esta enfermedad se encuentra distribuida en todas las regiones geográficas (OIE-HANDISTATUS II, 2001; Rosado, 2001) y ocupa el segundo lugar en los registros de la mortalidad asociada a enfermedades infecciosas en las aves, lo que indica la importancia actual de esta entidad dentro de la situación sanitaria de la avicultura nacional. Las pérdidas económicas que se reportan son por concepto de disminución de la puesta de huevos, disminución de la conversión alimentaria y aumento de los gastos asociados a su tratamiento.

2.2. Mycoplasma gallisepticum como agente etiológico de la enfermedad respiratoria crónica de los pollos

Mycoplasma gallisepticum es considerado el principal agente etiológico de la enfermedad denominada Enfermedad Respiratoria Crónica (ERC) de los pollos y de la sinusitis infecciosa en los pavos (Ley y Yoder, 1997; Kleven, 1998). Esta entidad ocasiona un cuadro respiratorio caracterizado por una alta morbilidad y baja mortalidad que puede ser severo cuando se complica con infecciones virales (Enfermedad de Newcastle y Bronquitis infecciosa), ciertas bacterias como *E. coli*, parásitos y en algunos casos estrés (Kempf, 1993). La infección por *M. gallisepticum* puede permanecer subclínica y en otros casos provoca síntomas respiratorios como ruidos traquéales, estornudos, coriza, descargas nasales, sinusitis, desarrollo de lesiones severas en los sacos aéreos y retardo en el crecimiento (Salami y col., 1992; Kleven, 1998).

2.2.1. Epizootiología

La infección por *Mycoplasma gallisepticum* ocurre mayormente en pollos y pavos. Sin embargo esta especie ha sido aislada de faisán, perdiz, pavo real, codorniz, loros y patos (Yoder, 1991).

La infección es transmisible a pollos no infectados por contacto directo e indirecto. Dado que este agente coloniza el tracto respiratorio superior, una gran cantidad del microorganismo puede ser excretado por descargas nasales o estornudos y así pasar a animales sanos, de ahí que el principal método de infección de un lote, es a través de un lote vecino infectado (Kempf, 1997). La transmisión depende del tamaño del reservorio de la infección, el número de individuos susceptibles y la distancia entre ellos; es más probable durante la fase aguda de la infección, de ahí que en términos de riesgo de transmisión horizontal, los lotes son más peligrosos durante los primeros 2-3 meses luego de la infección, y está influenciada por la habilidad de la cepa para multiplicarse en el tracto respiratorio (Soeripto y col., 1989;

Yoder, 1991). Una vez que un ave sea infectada, se considera que lo estará crónicamente de por vida, dado que como ya fue referido, *M. gallisepticum* tiene la capacidad de generar formas alternativas de epítopes de superficie para producir cambios fenotípicos espontáneos en la expresión de sus lipoproteínas de superficie, mecanismo que le permite la evasión de la respuesta inmune del hospedero a epítopes específicos y la sobrevivencia en los tejidos del mismo (Citti y Rosengarten, 1997). La incidencia de aislamientos positivos a *M. gallisepticum* puede variar desde un pequeño porcentaje hasta un 70%, pero la infección permanece por un largo tiempo, de esta manera las parvadas infectadas son frecuentemente las fuentes de las nuevas infecciones (Kempf, 1997).

La principal ruta para la diseminación de la infección por *M. gallisepticum*, indicada por muchos autores, es la transmisión por el huevo (Kempf, 1997; Levisohn y Kleven, 2000). En la fase aguda de la infección *M. gallisepticum* puede alcanzar los folículos fácilmente en una alta proporción, más tarde, en la ponedora infectada, coloniza los ovarios y oviductos antes de la puesta de huevos que resultarán también infectados, muestra de ello es, que *M. gallisepticum* puede ser aislado no sólo de embriones sino también de la membrana vitelina de huevos frescos (Stipkovits y Kempf, 1996). Una proporción de embriones infectados muere durante la incubación y la otra parte nace portando la infección. Como consecuencia *M. gallisepticum* puede ser transportado a muy largas distancias a través de los huevos y por pollitos de un día de edad (Kempf, 1997). La transmisión entre aves por aerosol es importante dentro de una granja o cuando estas están muy cerca. En casos extremos es posible la transmisión por el aire a distancias de hasta 1 ó 2 Km (Kleven, 1998).

El tiempo de supervivencia de *M. gallisepticum* fuera del hospedero varía desde 1 a 14 días, dependiendo de la temperatura ambiente y los materiales sobre los que el microorganismo reside (Yoder, 1991); por lo tanto una mala limpieza y desinfección de las instalaciones o los utensilios de trabajo puede ser fuente de infección. Los mayores períodos de supervivencia han sido observados en huevos (en fluido alantoideo: 3 semanas a 5 ° C, 4 días en la incubadora, 6 días a temperatura ambiente; en saco: 18 semanas a 37 ° C ó 6 semanas a 20 °C). En el pelo en el pelo humano y la piel, *M. gallisepticum* puede sobrevivir de uno a dos días (Stipkovits y Kempf, 1996) de modo que el personal que trabaja con parvadas infectadas puede también actuar como portador de la infección.

2.2.2. Manifestaciones clínicas

Bajo condiciones naturales, el período de incubación de la infección por *M. gallisepticum* puede variar de 3 a 38 semanas. En los lotes infectados a través del huevo los signos clínicos pueden desarrollarse en algunos casos entre las 3 y 6 semanas de edad y en otros, al inicio de la producción de huevos. En el caso de granjas con pollos provenientes de huevos sumergidos en soluciones de antibióticos para el control de *M. gallisepticum*, los signos clínicos pueden manifestarse después de la aparición de otras enfermedades o un estrés (Stipkovits y Kempf, 1996).

Los signos clínicos más comunes en pollos y pavos son descargas nasales, ruidos traqueales, tos, estornudos y exudados de uno o ambos senos infraorbitales mayormente en pavos y

conjuntivitis media. En algunos casos son observados signos como ataxia, cojera y ensanchamiento del globo ocular. El apetito permanece cerca de lo normal tanto tiempo como las aves puedan comer. Son observados también signos clínicos no específicos tales como una reducción del crecimiento y la producción de huevos y una afectación de la eficacia de la conversión de alimentos (Stipkovits y Kempf, 1996).

La severidad de las manifestaciones clínicas de la infección producida por *M. gallisepticum* varía ampliamente, estando fuertemente influenciada por infecciones secundarias, factores ambientales como la ventilación, humedad, concentración de amonio y la temperatura. Es conocido por ejemplo, que en las condiciones de bajas temperaturas de los meses de invierno la enfermedad es más severa y de mayor duración (Kleven, 1998). Otros aspectos a tener en cuenta son las diferencias encontradas entre cepas de esta especie en cuanto a virulencia (Soeripto y col., 1989) y tropismo por los tejidos (Chin y col., 1991). La morbilidad también varía en función de la edad y sexo de las aves. Los pollos jóvenes son más severamente afectados y los machos generalmente expresan signos clínicos más severos que las hembras (Stipkovits y Kempf, 1996).

2.2.3. Lesiones

Las lesiones provocadas por la infección por *M. gallisepticum* incluyen un exceso de mucus en el tracto respiratorio, exudado catarral en la nariz, senos, tráquea, bronquios, pulmones y sacos aéreos, edema de las paredes de los sacos aéreos y exudado caseoso en los mismos y en el oviducto. En casos complicados pueden observarse pericarditis, perihepatitis y algunas veces, exudados y edema del tejido periarticular, exceso de fluido en las articulaciones, erosión de la superficie articular (artritis), inflamación de la bolsa y la membrana sinovial y palidez en áreas del cerebro (Yoder, 1991).

2.2.4. Mecanismos de inmunidad que operan en la infección por *M. gallisepticum*

M. gallisepticum es un parásito de superficie que coloniza la membrana mucosal del tracto respiratorio superior del hospedero, teniendo predilección por las células epiteliales. Los mecanismos inmunes que operan en la infección de esta entidad aun no están totalmente claros. La respuesta inicial contra *M. gallisepticum* parece ser una respuesta inflamatoria y más tarde, con la formación de centros linfocíticos germinales, una respuesta inmune específica (Whithear, 1996).

La importancia de las inmunoglobulinas se ha demostrado al encontrar que pollos bursectomisados tienen menor resistencia a *M. gallisepticum* que pollos normales (Adler y col., 1973; Lam y Lin, 1984) o pollos timoctomisados (Lam y Lin, 1984). Es posible encontrar en el plasma de animales afectados un nivel de anticuerpos significativo; sin embargo no se ha encontrado correlación entre los niveles de anticuerpos específicos circulantes y la protección contra la infección (Lam y Lin, 1984; Lin y Kleven, 1984; Talkington y Kleven, 1985; Whithear y col., 1990). Los anticuerpos locales por su parte parecen ser de importancia (Chhabra y Goel, 1981; Yagihashi y Tajima, 1986; Yagihashi y col., 1992; Elkafi y col., 1993). Se ha planteado como hipótesis que la inmunidad local en el

tracto respiratorio superior del hospedero, puede ser más importante que las inmunoglobulinas sistémicas en proporcionar protección a la infección y a la enfermedad causada por *M. gallisepticum* (Kempf, 1997). Algunos resultados han aportado valiosa contribución a esta idea; se han encontrado niveles de Ig específicas (IgG, IgM e IgA) en secreciones traqueales (Yagihashi y Tajima, 1986; Yagihashi y col., 1992), lágrimas y saliva (Yagihashi y col., 1992), posterior a la infección o inmunización. Al aumentar los niveles de IgG e IgA en las secreciones traqueales se ha visto disminución en las lesiones y en la población de *M. gallisepticum* en tráquea (Chhabra y Goel, 1981; Yagihashi y Tajima, 1986). De igual modo la actividad protectora de los anticuerpos locales quedó demostrada cuando en pollos inoculados se encontró la producción de IgA, IgM e IgG detectadas en los lavados de los tractos respiratorios superior e inferior, los que tuvieron efectos protectores significantes en un sistema de cultivo de anillos traqueales inoculados con *M. gallisepticum* (Avakian y Ley, 1992). Se sugiere que al menos una parte de los anticuerpos presentes en el tracto respiratorio pueden ser producidos en la glándula Harderiana y no migrar del suero como se aceptaba anteriormente (Colleie, 1996).

La contribución de la inmunidad mediada por células en la resistencia a *M. gallisepticum*, no ha sido intensamente estudiada pero algunos autores consideran que puede ocupar el primer plano (Colleie, 1996), mientras que, otros plantean que la incidencia de su papel es circunstancial (Whithear, 1996).

Sin duda lo que se conoce acerca de la inmunidad de este microorganismo no es suficiente y se necesita de un mejor conocimiento de este fenómeno para guiar el control de esta especie de micoplasma con vacunas que desarrollen una inmunidad protectora eficiente.

2.3. Diagnóstico de la infección por *M. gallisepticum*

Los signos clínicos y lesiones patomorfológicas del tracto respiratorio observadas durante la infección por *M. gallisepticum* no son patognomónicas para esta entidad, de ahí que el diagnóstico de la misma requiere de la confirmación en el laboratorio, para lo cual se emplean el cultivo y la identificación de esta especie por pruebas bioquímicas o inmunoquímicas como la Inmunofluorescencia o la Inmunoperoxidasa, técnicas serológicas como la seroaglutinación rápida en placas (SAR), la Inhibición de la hemoaglutinación (HIA) y el ensayo inmunoenzimático (ELISA) (Nepomuceno, 2000).

La respuesta inmune después de la infección con *M. gallisepticum* se inicia con la producción de IgM detectadas por SAR de 7 a 10 días después de la exposición con el microorganismo. Posteriormente se producen las inmunoglobulinas tipo G detectadas de 2 a 3 semanas después de la exposición, que pueden ser detectadas por HIA y ELISA (Contreras, 2000).

La técnica SAR es altamente sensible y como consecuencia en algunos casos reaccionará con sueros que no presentan anticuerpos específicos contra *M. gallisepticum* (sueros falsos positivos). Esto puede ocurrir por la utilización de sueros congelados, la presencia de infecciones causadas por otras bacterias, por *M. synoviae* y por la aplicación de vacunas

inactivadas oleosas y cualquier tipo de vacuna que contenga componentes de suero (Contreras, 2000).

El procedimiento de monitoreo serológico que se sigue normalmente para determinar si las aves se han infectado con *M. gallisepticum*, consiste en efectuar primero la prueba de SAR y la confirmación con las técnicas de HIA o ELISA (Kleven y Yoder, 1989; Contreras, 2000; CFR, 2001).

Están también disponibles técnicas basadas en la tecnología de genes como la hibridación de ácidos nucleicos (HAN) (Fernández y col., 1993) y la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) (Kiss y col., 1997), estas últimas muy utilizadas pues permiten una rápida detección, con una alta especificidad y sensibilidad, pudiéndose trabajar con muestras directas (exudados de órganos) sin tener que realizar el cultivo de la especie (Contreras, 2000).

2.4. Métodos de control de la infección por *M. gallisepticum*

Las estrategias para reducir el impacto de las infecciones de *M. gallisepticum* en aves comerciales incluyen programas de supervisión, control y erradicación. Mundialmente se trabaja para que la mayoría de las empresas de las líneas genéticas de engorde y ponedoras estén libres de micoplasmas, con el objetivo de lograr que las progenies que se distribuyan comercialmente estén libres de estos gérmenes (Kleven, 1998a). El mejor método para el control de *M. gallisepticum* en los lotes infectados es la despoblación (Nepomuceno, 2000), pero este método no siempre resulta factible económicamente, sobre todo cuando no pueden garantizarse medidas de bioseguridad que eviten la infección de los lotes posteriormente. De ahí que como un método alternativo se utilice el tratamiento con antibióticos (Jordan y col., 1998); este tratamiento es efectivo en la reducción de los signos clínicos y las pérdidas en la producción pero hace muy poco en cuanto a la eliminación de la infección, además, es un tratamiento extremadamente costoso.

Para los casos en que no es posible controlar la infección, los programas de vacunación son de gran utilidad para disminuir las pérdidas económicas en la producción de ponedoras y pollos de engorde infectados (Braton y col., 1999).

2.4.1. Control de *M. gallisepticum* por vacunación

La vacunación tiene dentro de sus propósitos prevenir la infección del tracto respiratorio, evitar la pérdida de huevos asociados a esta infección en ponedoras y reproductoras, reducir los costos de medicación y la transmisión vertical de *M. gallisepticum* de la madre a la progenie a través del huevo (Levinshon y Kleven, 2000; Patala, 2000). Para el caso de vacunas vivas en crías de edades múltiples, otro de sus objetivos es facilitar la erradicación de esta entidad reduciendo los reservorios de la infección y/o remplazando las cepas endémicas por cepas vacunales vivas de menor patogenicidad fácilmente transmisibles (Whithear, 1996).

Su empleo es ampliamente reportado en la literatura, a través del uso de vacunas de cultivos inactivados de células completas (bacterinas) o vacunas de cultivos vivos. Aunque se observa variabilidad antigénica entre cepas de *M. gallisepticum* esta no parece ser suficiente para elaborar vacunas multivalentes (Whithear, 1996).

2.4.1.1. Vacunas vivas atenuadas.

Durante muchos años ha estado disponible comercialmente una vacuna viva elaborada con la cepa F de *M. gallisepticum*, de amplio uso en los E.U.A., para la prevención de pérdidas en la producción de huevos en granjas compuestas por parvadas de edades múltiples (Kleven, 1998).

En los últimos años se han introducido dos cepas adicionales de *M. gallisepticum*, que se utilizan como vacunas vivas, la cepa ts-11 (mutágeno sensible a la temperatura) (Soeripto y col., 1989) y la cepa Intervet 6/85, ambas son cepas atenuadas artificialmente de baja virulencia que están licenciadas en E.U.A. y probadas en Australia e Israel (Whithear, 1996).

La preparación vacunal de la primera, es formulada como cultivo fresco o congelado a -70°C , o a partir de cultivos liofilizados para ser administrada en aerosol o por inoculación conjuntival en dosis mayores e iguales de $10^{7.7}$ UFC/mL. La concentración de microorganismos viables usados en el campo varía entre $10^{5.7}$ y $10^{7.7}$ UFC/mL a 10^9 UFC/mL (Colleie, 1996).

La cepa 6/85 es administrada en aerosol, en la dosis de 0.5 mL/ave con un título de 10^7 a 10^8 UFC/mL, resultando eficaz frente al desafío experimental por aerosol con la cepa R de *M. gallisepticum* (10^8 UFC/mL), 4 semanas post-vacunación (Evans y col., 1992).

2.4.1.1.1. Eficacia de las vacunas vivas

Múltiples estudios de evaluación de eficacia se realizan para demostrar la importancia del uso de vacunas vivas en la prevención de síntomas respiratorios y prevención de la disminución de la producción de huevos asociados a la infección por *M. gallisepticum*. Referido al primer aspecto, se reporta que pollos vacunados por gota en el ojo con la cepa F al día de edad fueron protegidos frente a una confrontación experimental (Lin y Kleven, 1982), resultado importante teniendo en cuenta que cepas de baja virulencia son inefectivas o menos efectivas cuando son administradas por esta vía al día de edad (Whithear, 1996). También se demuestra la protección significativa contra el desarrollo de lesiones en sacos aéreos cuando pollos de dos semanas de edad son vacunados con la cepa 6/85 por aerosol y luego confrontados 4 ó 12 semanas después con una cepa virulenta de *M. gallisepticum* (Lin y Kleven, 1982).

Pollos vacunados con la cepa ts-11 resistieron la confrontación con cepas virulentas de *M. gallisepticum* administrada directamente en sacos aéreos y por aerosol (Whithear y col., 1990). Se reporta que en las condiciones de este experimento la protección contra los signos clínicos de la enfermedad producida por este microorganismo persistió hasta al

menos 40 semanas post vacunación (Whithear y col., 1990). En estudios de confrontación experimental, se vio que esta cepa vacunal confiere sólida protección contra el desarrollo de lesiones en tráquea y senos nasales, pero la protección contra el desarrollo de lesiones en sacos aéreos es menos consistente (Whithear y col., 1990). Es posible que un mecanismo inmune diferente, posiblemente inmunidad mediada por células, pueda operar en la protección de sacos aéreos, mientras que las inmunoglobulinas en las secreciones respiratorias, son importantes en la prevención de lesiones traquéales, de ser así, quizás la cepa ts-11 es menos eficiente en la estimulación de una consistente respuesta inmune mediada por células que la cepa F (Whithear, 1996).

En un estudio comparativo de infectividad, seguridad e inmunogenicidad entre estas cepas vacunales la cepa F ofreció superior protección contra el desarrollo de lesiones en sacos aéreos que las cepas vacunales 6/85 y ts-11 (Abd-El-Motelib y Kleven, 1993); sin embargo, usando la vía de inoculación intra seno infraorbital para la confrontación la cepa ts-11 tuvo protección superior en experimentos de corrales en piso (Kinney, 1991) y campo (Hope y Kinney, 1993) comparada con las cepas F y 6/85. Utilizando la vía intraocular la cepa F también estimuló una más fuerte respuesta de anticuerpos y persistió a mayores niveles en el tracto respiratorio superior que las cepas menos virulentas ts-11 y 6/85 (Abd-El-Motelib y Kleven, 1993; Turner y Kleven, 1998).

La cepa F ha mostrado, ofrecer protección contra la colonización de cepas de confrontación más virulentas y capacidad para desplazar las cepas de campo cuando es usada continuamente en sitios de producción de múltiples edades (Kleven y col., 1998). No obstante se considera que en condiciones de campo pudieran ser útiles para desplazar las cepas circulantes. Se ha evaluado la utilización de la vacunación con ts-11 para desplazar la cepa F residente en una pequeña granja ponedora de edades múltiples con éxito (Turner y Kleven, 1998). Otro estudio similar indica la posibilidad de usar la cepa ts-11 en programas de erradicación (Whithear, 1996). Para el caso de la cepa vacunal 6/85, aun esta por determinar si puede ser usada de igual modo en programas de desplazamiento y erradicación de cepas de campo.

La efectividad de la cepa F en reducir la disminución en la puesta de huevos asociada con la infección de *M. gallisepticum* ha sido demostrada tanto en experimentos controlados (Glisson y Kleven, 1984) como de campo (Carpenter y col., 1981; Branton y col., 1997), pero es de señalar que animales vacunados con esta cepa producen menor cantidad de huevos que aves libres (Kleven, 1998).

De forma comparativa se ha visto que gallinas vacunadas con la cepa 6/85 producen significativamente menor cantidad de huevos que las vacunadas con la cepa F en los periodos inmediatamente después de la confrontación, pero significativamente más en la fase de recuperación (Evans y col., 1992).

Para la cepa ts-11 se reporta que pollos vacunados produjeron 41.3 huevos en un periodo de siete semanas después de la inoculación en sacos aéreos con cepa virulenta de *M. gallisepticum* comparados con 25.8 huevos ($p < 0.01$) producidos por los no vacunados, sin

embargo posterior a la confrontación, no se observaron diferencias entre el número de huevos de las aves vacunadas y el grupo control no vacunado ($p < 0.01$) (Whithear y col., 1990).

Como otro aspecto importante y no positivo debe señalarse que las vacunas vivas no previenen la transmisión de *M. gallisepticum* a través del huevo. Se ha visto que la vacunación con la cepa F reduce significativamente, pero no elimina, la transmisión del microorganismo por esta vía en gallinas confrontadas por aerosol (Glisson y Kleven, 1984; Glisson y Kleven, 1985). Similarmente se ha comportado la cepa ts-11 cuando se han confrontado gallinas por inoculación directa de una cepa virulenta de *M. gallisepticum* en la región de los sacos abdominales (Glisson y Kleven, 1984). A causa de la ineficiencia de este tipo de vacunas para impedir la transmisión vertical de *M. gallisepticum* por esta vía su uso en el mantenimiento de aves libres, es limitado.

2.4.1.1.2. Seguridad de las vacunas vivas

Se reporta que la cepa F es de moderada virulencia para pollos y de alta virulencia para pavos (Lin y Kleven, 1982), así mismo parece ser demasiado virulenta como vacuna en pollos de engorda de un día de edad cuando es administrada por aerosol, pues provoca lesiones en sacos aéreos particularmente cuando es aplicada simultáneamente con la vacuna combinada contra el virus de la enfermedad de Newcastle y el de la Bronquitis infecciosa (Rodríguez y Kleven, 1980).

Algunos efectos negativos sobre la producción de huevos han sido reportados, en gallinas de 45 semanas de edad vacunadas con la cepa F de alto número de pases, donde se encontró que la producción de huevos fue significativamente menor (entre 5.76% y 5.80%) en dos experimentos, aunque sin afectación de parámetros de calidad del huevo (Branton y col., 1988).

También ha sido reportado que la cepa F puede contribuir a incrementar la mortalidad por estrés de calor. Lo que fue corroborado al encontrar que gallinas ponedoras vacunadas con esta cepa, sometidas a altas temperaturas tuvieron significativamente mayor temperatura rectal que controles no vacunados (Simmons, 1988).

Las cepas ts-11 y 6/85 por su parte, son consideradas apatógenas para pollos y pavos (Lin y Kleven, 1982) y se difunden muy poco de ave en ave, lo que ha sido demostrado en estudios de transmisibilidad de estas cepas vacunales vivas, (Ley y col., 1997), lo que le confiere a estas nuevas cepas vacunales ventajas sobre la cepa F atendiendo a estos aspectos.

Sin embargo, la reversión de la virulencia de cepas vacunales vivas, de forma general, es una posibilidad potencial que constituye la principal preocupación con respecto a la seguridad en el empleo de este tipo de formulaciones. Para el caso de las vacunas vivas disponibles para el control de *M. gallisepticum* no existe ningún reporte en la literatura que evidencie que estas aumenten su patogenicidad después de años de uso, pero es este el

principal elemento por el que muchos avicultores rechazan el uso de estas vacunas (Kempf y col., 1993).

2.4.1.2. Bacterinas para el control de *Mycoplasma gallisepticum*

Las bacterinas contra *M. gallisepticum* son usadas comercialmente en múltiples países para el control de esta entidad. Este tipo de vacunas contiene el microorganismo inactivado por formol, β -propiolactona, choque térmico (Elfaki y col., 1993) o tiomersal (Sánchez y col., 1998), mezclado en una emulsión oleo-acuosa (Sundquist y col., 1996) o hidróxido de aluminio (Yagihashi y col., 1987) como adyuvantes.

Las bacterinas tienen como ventaja que no son productos infecciosos y por tanto su uso no implica riesgos de infección en los lotes vacunados o vecinos, ni de reversión de virulencia, todos los cuales son problemas potenciales de las vacunas vivas como fue referido anteriormente. De gran importancia resulta también el hecho de que las bacterinas estimulan una más uniforme y confiable respuesta inmune, superior a la que inducen las cepas vivas (Abd-El-Motelib y Kleven, 1993).

2.4.1.2.1. Eficacia de las bacterinas

Las bacterinas oleosas pueden ser utilizadas con éxito en la reducción de la incidencia de síntomas respiratorios así como en la prevención de pérdidas en la puesta de huevos asociados a la infección por *M. gallisepticum*. Esto ha sido demostrado en estudios de eficacia controlados (Glisson y Kleven, 1984; Glisson y Kleven, 1985) y en campo (Hildebrand y col., 1983). Se ha reportado por ejemplo que una bacterina oleosa contra este microorganismo redujo la incidencia de síntomas respiratorios luego de una confrontación vía senoinfraorbital con las cepas R, S6, PG-31 ó 1150 de *M. gallisepticum*, tanto en pollos como en pavos (Hildebrand, 1985; Hildebrand y col., 1983). Cuantitativamente se observó una reducción de aerosaculitis del 44 % en el grupo no vacunado al 10 % en los vacunados, además de una reducción del número de organismos presentes en tráquea en este grupo post-confrontación (Hildebrand, 1985). Esta bacterina en condiciones de campo indujo en gallinas ponedoras la mayor producción de huevos, y mejores parámetros de calidad, así como mejor conversión alimentaria que en pollos vacunados con un cultivo de cepa F (Hildebrand, 1985).

Al igual que en las vacunas vivas, existe un efecto de la edad del ave en el momento de vacunación sobre los niveles de protección estimulados por bacterinas oleosas. Pollos vacunados al día de edad logran poca protección, los vacunados a los siete días de edad protección variable y los vacunados con 11 días o mayores una protección significativa (Yoder y col., 1984). Se recomienda que la vacunación se realice entre los 14 y 28 días de edad siempre antes de que ocurra la infección en con las cepas de campo (Barbuour, 1987).

De igual modo se ha evaluado el efecto causado por el número de dosis de vacuna en los niveles de protección. Se reporta que un esquema de dos dosis brinda protección superior al de una sola dosis (Hildebrand y col., 1983). En un experimento de campo se obtuvo 12.8

huevos más por gallina en un grupo vacunado con dos dosis de bacterina que un grupo control vacunado con la cepa F, mientras que la diferencia fue solo de 38 huevos en el caso del grupo vacunado con una sola dosis (Hildebrand y col., 1983). En otro estudio se reporta que la producción de huevos a las 66 semanas de edad en tres parvadas comerciales fue de 7.6 % a 9.1 % mayor con respecto a los controles cuando se aplicaron dos dosis de vacuna (Whithear, 1996).

Con respecto al efecto de las bacterinas sobre la ovotransmisión de *M. gallisepticum* hay que destacar que solo este tipo de vacunas es capaz de reducir esta importante vía de transmisión. Se reporta, entre otros resultados, que la vacunación con una o dos dosis de bacterina retrasó y redujo el grado de transmisión en comparación con gallinas no vacunadas, posterior a la confrontación con una cepa virulenta de *M. gallisepticum* (Barbuour, 1987; Elfaki y col., 1993), y que una bacterina adyuvada con hidróxido de aluminio, administrada en dos dosis, suprimió la transmisión transovárica de este microorganismo inoculado en el pico de puesta, 7 semanas después de la segunda inoculación por vía seno infraorbital con 2.1×10^7 UFC/0.1 mL (Yagihashi y Tajima, 1986).

2.4.1.2.2. Seguridad de las bacterinas

Las vías más comunes de administración de este tipo de vacunas son la vía intramuscular y la vía subcutánea. Para ambas vías, el sitio de inoculación es de gran importancia. Se reporta que pollos vacunados subcutáneamente en la base del cráneo desarrollaron un edema transitorio alrededor de los ojos, mientras que los vacunados por esta vía en la región media o baja de la nuca del cuello no mostraron reacciones adversas (Hildebrand y col., 1983). Cuando se utiliza la vía intramuscular se recomienda inocular en el músculo de la pechuga por razones de facilidad de administración y menos cantidad de complicaciones clínicas (Droual y col., 1993), no obstante en un estudio de los problemas asociados con la inoculación de bacterinas por esta vía se vio que pueden producir lesiones residuales en forma de quistes, que pueden ser detectados dos años después de la vacunación (Droual y col., 1990).

Otra alternativa es la inyección intramuscular en el muslo, que también puede provocar reacciones locales adversas. Se reporta inflamación debido a celulitis granulomatosa en el tejido conectivo de la pierna vacunada, que puede incrementarse con el movimiento de los pollos vacunados de galpones de cría a los de producción (Droual y col., 1993).

Ninguna de las vacunas reportadas garantiza una protección completa contra la infección; por lo que el uso de un tipo de vacuna u otro dependerá del objetivo que se pretenda con la vacunación (Lombardi, 1996; Patala, 2000).

Muchos productores avícolas prefieren no aplicar las vacunas vivas a causa de su ineficiencia para impedir la transmisión vertical de *M. gallisepticum* y están a favor de las bacterinas pues tienen además la ventaja de que no son productos infecciosos y por tanto su uso no implica riesgos de infección en los lotes vacunados o vecinos, ni reversión de la virulencia, todos los cuales son problemas potenciales de las vacunas vivas como fue referido

anteriormente. Otro aspecto de gran importancia resulta el hecho de que las bacterinas estimulan una respuesta inmune más uniforme y confiable, superior a las que inducen las cepas vivas (Abd-El-Motelib y Kleven, 1993).

Estos elementos a su favor, unidos a su eficacia hacen que las bacterinas sean utilizadas por muchos avicultores para el control de la enfermedad en gallinas reproductoras y ponedoras, a pesar de que resultan preparados más caros, requieren más cantidad de antígeno para su elaboración y a la necesidad de tomar los pollos individualmente para su aplicación.

Los programas de vacunación en uso actual si bien han dado buenos resultados de acuerdo a sus propósitos, aún pudieran ser más eficaces contemplando los mecanismos de patogenicidad e inmunidad de esta especie de micoplasma.

2.4.1.3. Vacunas comerciales disponibles

Hasta el presente, comercialmente sólo se producen bacterinas y vacunas vivas. A continuación se presenta datos generales de algunas de ellas.

VACUNA	DESCRIPCIÓN	FABRICANTE
Mypravac Avis	Inactivada	Laboratorios Hipra, España
MG- Bac®	Inactivada Oleosa	Fort Dodge Animal Health, E.U.A.
Bio Myco	Inactivada Oleosa	Laboratorios Bioteke, Italia
TALOVAC 104 (Cepa S6)	Inactivada Oleosa	Lohmann Animal Health GmbH & Co. KG, Alemania
MG Bacterin (Cepa R)	Inactivada Oleosa	Lab. Vineland E.U.A.
Gally vac	Inactivada Oleosa	Bio-Vet, Brasil
Nobilis MG inact	Inactivada	Intervet (E.U.A.)
MG-Vax	Inactivada Oleosa	Merial, Italia
F VAX- MG® (Cepa F)	Viva Patógena moderada para pollos, patógena para pavos	Shering-Plough , E.U.A. e Israel
Vaxsafe® MG (Cepa ts-11)	Viva. No patógena para pollos	Merial Select, E.U.A. y Australia
Nobilis® MG 6/85 ó Mycovac L,	Viva No patógena para pollos	Intervet, América (E.U.A. y México)

2.4.1.4. Nuevas propuestas en el desarrollo de vacunas

Atendiendo a los problemas relacionados con las reacciones adversas en los tejidos y el fracaso para estimular una adecuada respuesta inmune local luego de la administración parenteral de emulsiones con adyuvantes oleosos, nuevos adyuvantes se han evaluado, tal es el caso de liposomas (Barbuour y Newman, 88), de un polisacárido sulfatado de origen natural (Elfaki y col., 1993) y complejos inmune estimulantes (Sundquist y col., 1996).

Bacterinas conteniendo liposomas de diferentes tamaños y cargas, han estimulado una respuesta mediada por células significativamente mayor que bacterinas oleosas (Barbuour, 1987). Una bacterina con liposomas multilaminares cargados positivamente estimuló una respuesta de anticuerpos específicos en suero y mejoró la producción de huevos; el grado de transmisión de *M. gallisepticum* a través del huevo fue menor en gallinas vacunadas con esta formulación que en gallinas controles no vacunadas confrontadas por inoculación en sacos aéreos (Barbuour y Newman, 1988). La acción de liposomas también permitió proteger con 100 % de efectividad a gallinas ponedoras contra una inoculación intratraqueal de la cepa R de *M. gallisepticum*. En este caso se desarrolló una fuerte reacción inmune mediada por células y respuesta humoral tanto sistémica como local (Colleie, 1996). Se conoce que los liposomas potencializan la repuesta inmune contra polipéptidos de bajo peso molecular (< 48 kDa) (Colleie, 1996), característica que puede ser de gran utilidad para obtener vacunas por subunidades eficaces, utilizando proteínas, adhesinas, que participan en el proceso de fijación al hospedero, aspecto que como se conoce juega un importante papel en la patogenia de la enfermedad producida por esta especie.

Los avances en las técnicas de Biología Molecular y el conocimiento alcanzado sobre el proceso de patogenia de *M. gallisepticum*, han permitido la obtención por vía recombinante de las adhesinas que participan en el proceso infeccioso. Ha sido expresada por esta vía, por ejemplo, una proteína de 29 kDa (Saito y col., 1993; Chávez y col., 1997) que fue evaluada como vacuna con buenos resultados de protección en pollos (Saito y col., 1993).

Por otra parte, se han estudiado bacterinas conteniendo 0.2 % de un polisacárido sulfatado de origen natural como adyuvante por diferentes vías de inoculación (Elfaki y col., 1993), encontrando, que la vacunación vía intracolémica con esta formulación resultó tan efectiva como la vacunación con una bacterina comercial vía subcutánea y más efectiva aun, cuando fue seguida por inmunización vía intranasal o intratraqueal, estas combinaciones produjeron los mayores niveles de IgG e IgA contra *M. gallisepticum* en suero y lavados tráqueobronquiales y la mayor efectividad en la protección contra aerosaculitis (Elfaki y col., 1993). Estas vías no son prácticas para la vacunación en condiciones de campo, pero los resultados alientan a la evaluación de estos efectos por otras vías más factibles de utilizar en condiciones de producción.

Las bacterinas preparadas como complejos inmuno estimulantes (ISCOM), también pudieran ser de importancia en la protección de aerosaculitis y el desarrollo de vacunas por subunidades. Se reporta que una vacuna experimental de este tipo, preparada a partir de células de *M. gallisepticum* solubilizadas en detergente, brindó una protección significativa

contra el desarrollo de lesiones en pollos confrontados con una cepa virulenta de *M. gallisepticum* inoculada vía sacos aéreos (Whithear, 1996). La vacuna fue administrada en una sola dosis vía intramuscular y no se observaron los efectos que producen las bacterinas en emulsión oleosa. La respuesta protectora fue dependiente de la dosis de antígeno y ocurrió independientemente de que la respuesta de anticuerpos fue débil o ausente, sugiriendo una vez más que la respuesta inmune mediada por células puede ser importante en la protección contra la confrontación directa en sacos aéreos con *M. gallisepticum* (Whithear, 1996).

La inmunización con vacunas de ácidos nucleicos es también un nuevo y promisorio acercamiento a la producción de vacunas eficaces con las ventajas de las vacunas vivas atenuadas y sin los riesgos de infección de éstas (Shmuel y col., 1998). Estas vacunas consisten en el empleo de plásmidos de ADN codificando antígenos que se expresan in situ, presentando epítopes antigénicamente relevantes para el sistema inmune y han mostrado habilidad para estimular, tanto la respuesta humoral como la mediada por células. Este tipo de inmunización ofrece nuevas posibilidades para la futura generación de vacunas de micoplasmas aviares, por ejemplo, abre las puertas a la posibilidad del desarrollo de vacunas orales a partir del uso de los sistemas de bactoferción utilizando el modelo de *Salmonella typhimurium* mutantes aro A, los que permitirán la liberación de los plásmidos de expresión eucariota en las células (Fagan y col., 1997), como también la posibilidad de inmunizaciones librerías genómicas. Algunos ensayos realizados en ratones, inmunizados con una librería genómica de *M. pulmonis* mostraron que con solo 1 ng de DNA se produjo respuesta inmune y posterior a la confrontación no se observó ni cultivo del microorganismo, ni lesiones en pulmón (Barry y col., 1995). Hasta el momento no se reporta ninguna inmunización realizada con librerías de expresión de *M. gallisepticum*, pero bien podría ser una potente alternativa para la protección contra esta entidad a muy bajo costo.

3. Bibliografía

1. Abd-El-Motelib, T. Y. y Kleven, S. H. (1993). A comparative study of *Mycoplasma gallisepticum* vaccines in young chickens. *Avian Diseases*. 37: 981-987.
2. Adler, H. E.; Bryant, B. J.; Cordy, D. R.; Shifrine, M. y DaMassa, A. J. (1973). Immunity and mortality in chickens infested with *M. gallisepticum*: Influence of the bursa of fabricius. *J. Infect. Dis.* 127: S61-S68.
3. Avakian, A. P. y Ley, D. H. (1992). Inhibition of *M. gallisepticum* growth and attachment to chick traqueal rings by antibodies to a 64 kilodalton membrane protein of *M. gallisepticum*. *Avian Dis.* 37: 706-714.
4. Barbuour, E. K. (1987). Protection and immunity in commercial chickens layers administered *Mycoplasma gallisepticum* liposomal bacterin. *Avian Dis.* 31 (4): 723-729.
5. Barbuour, E. K. y Newman, J. A. (1988). Evaluation of *Mycoplasma gallisepticum* liposomal bacterin administered by different routes in chickens. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 192: 1783.
6. Barry, M. A.; Lai, W. C. y Johnston, S. A. (1995). Protection against mycoplasma infection using expressions-library immunization. *Nature*. 377: 632-635.

7. Branton, S. L.; Lott, B. D.; Deaton, J. W. y Maslin, W. R. (1988). F strain Mycoplasma gallisepticum vaccination of post-production peak commercial leghorns and its effect on egg and eggshell quality. Avian Diseases 32 (2): 304-307.
8. Branton, S. L.; Lott, B. D.; May, J. D.; Maslin, W. R.; Potle, C. R. y Pharr, G. T. (1997). The effects of F strain Mycoplasma gallisepticum, M. synoviae and the dual infection in commercial layer hens aver a 44 week laying cycle challenged before beginning of lay. I. Egg production and selected egg quality parameter. Avian Diseases 41: 832-837.
9. Branton, S. L.; May, J. D.; Lott, B. D. y Pharr, G. T. (1999). Effects of age at inoculation and induced molt on the recovery of Mycoplasma gallisepticum from layer chickens. Avian Diseases 43: 516-520.
10. Carpenter, T. E.; Mallinson, E. T.; Miller, K. F.; Gentry, R. F. y Schwartz, L. D. (1981). Vaccination with F strain M. gallisepticum to reduce production losses in layer chickens. Avian Dis. 25: 404-409.
11. Chang, C. J. (1986). Inorganic salts and the growth of spiroplasmas. Can. J. Microbiol. 32: 861-866.
12. Chávez, Y.; Fernández, A. y Martínez, S. (1997): Amplificación, clonaje y expresión del gen que codifica para un polipéptido de 29 kDa de Mycoplasma gallisepticum. Avances en Biotecnología Moderna. 3: 1.42.
13. Chhabra, P. C. y Goel, M. C. (1981). Immunological response of chickens to M. gallisepticum infection. Avian Dis. 25: 279-293.
14. Chin, R. P.; Daft, M. C.; Meteyer, C. U. y Yamamoto, R. (1991). Meningoencephalitis in commercial meat turkey associated with M. gallisepticum. Avian Dis. 35: 986-993.
15. Citti, C. y Rosengarten, R. (1997). Mycoplasma genetic and its implication for pathogenesis. Wien Klin Wochenschr. 109 (14-15): 562-568.
16. Cluss, R. G. y Somersom, N. L. (1986). Interaction of albumin and phospholipid cholesterol liposomes in growth of Mycoplasma spp. Appl. Environ. Microbiol. 51: 281-287.
17. Code of Federal Regulations (9 CFR). Parts 1 to 1999. Animal and Animal Products (2001). Animal and Plant Health Inspection Service, USDA: 769-773.
18. Colleie, F. (1996). Contribution à l'étude de l'antigenicité et de l'inmunogenicité des mycoplasmas. Application à la vaccination. Thèse pour le doctorat veterinaire diplôme d'état. Partie II : Les bases théoriques de l'antigenicité et de l'inmunogenicité des mycoplasmes :41-76.
19. Contreras, M. (2000). Interpretación de pruebas serológicas para M. gallisepticum en aves vacunadas. Industria Avícola. Marzo: 16-20.
20. Droual, R.; Bickford, A. A. y Cutler, G. J. (1993). Local reaction and serological response in commercial layer chickens injected intramuscularly in the legs with oil adjuvanted M. gallisepticum bacterin. Avian Dis. 37: 1001-1008.
21. Droual, R.; Bickford, A. A.; Charlton, B. R. y Kuney, D. R. (1990). Investigation of problems associated with intramuscular breast injection of oil-adjuvanted killed vaccines in chickens. Avian Dis. 34: 473-478.

22. Elfaki, M. G.; Kleven, S. H.; Lin, L. H. y Ragland, W. L. (1993). Protections against airsacculitis with sequential systemic and local immunization of chickens using killed *M. gallisepticum* bacterin with iota carrageenan adjuvant. *Vaccine* 11 (3): 311-317.
23. Evans, R. D.; Hafez, Y. S. y Orthel, F. W. (1992). *Mycoplasma gallisepticum* vaccination-challenge: an egg-production model. *Avian Dis.* 36: 956-963.
24. Fagan, P. K.; Djordjevic, S. P.; Eamens, G. J.; Chin, J. y Walker, M. J. (1997). Oral immunization of mice with attenuated *Salmonella typhimurium* aroA expressing a recombinant *M. hyopneumoniae* antigen (NrdF). *Infect Immun.* 65: 2502-2507.
25. Fernández, C.; Mattesson, J.G.; Bolske, G.; Levisohn, S. y Johansson, K.E. (1993). Specie-specific oligonucleotide probes complementary to 16S rRNA of *Mycoplasma gallisepticum* y *Mycoplasma synoviae*. *Research in Veterinary Science* 55: 130-136.
26. Freundt, E. A. (1983). Culture media for classic mycoplasmas. En: *Methods in mycoplasmaology*. Razin, S. y Tully, J.G. (eds.). Vol 1. pp. 127-135. Academic Press, New York.
27. Gardella, R. S. y Del Guidice, R. A. (1983). Optimal temperature and atmospheric conditions for growth. En: *Methods in mycoplasmaology*. Razin, S. y Tully, J. G. (eds.) Vol. 1 pp. 221-215. Academic Press. New York.
28. Glisson, J. R. y Kleven, S. H. (1984). *M. gallisepticum* vaccination: effects on egg transmission and egg production. *Avian Dis.* 28: 406-415.
29. Glisson, J. R. y Kleven, S. H. (1985). *M. gallisepticum* vaccination: Further studies on egg transmission and egg production. *Avian Dis.* 29: 408-415.
30. Greenberg-Ofrath, N.; Terespolosky, Y.; Kahane, I. y Bar, R. (1993). Cyclodextrins as carriers of cholesterol and fatty acids in cultivation of mycoplasmas. *Appl. Environ. Microbiol.* 59: 547-551.
31. Hildebrand, D. G. (1985). Immunology and prophylaxis associated with the use of a *M. gallisepticum* bacterin in chickens. *La Clínica Veterinaria*, Vol. 108, Fas. 2: 89-94.
32. Hildebrand, D. G.; Page, D. E. y Berg, J. R. (1983). *M. gallisepticum* laboratory and field studies evaluating the safety and efficacy of an inactivated MG bacterin. *Avian Diseases* 27 (3): 792-802.
33. Hope, T. C. y Kinney, N. (1993). *M. gallisepticum*: ts-11 field trial safety birds challenged with MG R strain. Research report, MG-12-93, 23 August: 9. Select Laboratories Inc., Gainesville, Georgia.
34. Johansson, K. E.; Pettersson, B.; Heldtander, M.; Bolske, B. y Tully, J. G. (2000). Phylogeny of the genus *Mycoplasma* based on 16S rRNA sequence analysis. En: Program and abstracts. 13 International Congreso of International Organization for Mycoplasmaology. July 14-19, 2000. Acros, Fukuoka, Japan.
35. Jordan, F. T. W.; Forrester, C. A.; Ripley, P. H. y Burch, D. G. S. (1998). In vitro and in vivo comparisons of Valnemulin, Tiamulin, Tylosin, Enrofloxacin and Lincomycin/Spectinomycin against *Mycoplasma gallisepticum*. *Avian Diseases.* 42: 738-745.
36. Kempf, I. (1993). Mycoplasmoses aviares. En: *Mycoplasmes et mycoplasmoses animales*. Ministère de L' Agriculture (CNEVA), Sophia-Antipolis, France cours mycoplasmes du 20 au 24 septembre.
37. Kempf, I. (1997). Identification of two pathogenic avian mycoplasmas as strains of *M. pullorum*. *Lab. Biologic Cellulaire et Moleculaire*. INRA. Edovard-Bouneleux. France.

38. Kempf, I.; Blanchard, A.; Gestert, F; Guittet, M. y Bennejean, G. (1993a). The polymerase chain reaction for *M. gallisepticum* detection. *Avian Pathol.* 22(4): 739-750.
39. Kinney, N. (1991). *Mycoplasma gallisepticum*: immunogenicity of ts-11 and F strain mycoplasma organisms. Reserch Report, Mg-02-91, 6 february 7. Select Laboratories Inc., Gainesville, Georgia.
40. Kiss, I.; Matiz, K.; Kaszanyitky, E.; Chávez, Y y Johansson, K. E. (1997). Detection and identification of avian mycoplasma by polymerase chain reaction and restriction fragment length polymorphism assay. *Veterinary Microbiology.* 58: 23-50.
41. Kleven, S. H. (1997). *Mycoplasma synoviae* infection. En: *Diseases of poultry.* 10 th ed. Calnek, B. W.; Barnes, H. J.; Beard, C. H.; McDougald, L. R. y saif, Y. M. (eds.). Iowa state University Press, Ames, IA: 220-228.
42. Kleven, S. H. (1998). *Mycoplasmas* in the etiology of multifactorial respiratory disease. *Poultry Science* 77: 1146-1149.
43. Kleven, S. H. (1998a). Actualidades sobre la micoplasmosis aviar. Department of Avian medicine, University of Georgia, Athens, USA.
44. Kleven, S. H. y Baxter-Jones, C. (1997). *Mycoplasma iowae* infection. En: *Diseases of Poultry.* 10 ed. Calnek, B. W.; Barbes, J., Berad, C. W.; McDougald, L. R. y Saif, Y. M. (eds.). Iowa State Pres, Ames, IA.: 228-232.
45. Kleven, S. H. y Yoder, H. W. (1989). *Mycoplasmosis*. En: *A Laboratory Manual for the isolation and identification of avian pathogens.* Purchase, H. G.; Lawrence, H.; Domermuth, C. H. y Pearsn, J. E. (eds). pp. 57-61. American Association of avian pathologists. USA.
46. Kleven, S. H.; Fan, H. H. y Turner, K. S. (1998). Pentrial studies on the use of live vaccines to displace virulen *M. gallisepticum*. *Avian Dis.* 42 (2):300-306.
47. Lam, K.M. y Lin, W. (1984). Resistente of chickens inmunized against *M. gallisepticum* is mediated by bursal dependent lymphoid cels. *Vet Microbiol* 9 (5):509-514.
48. Le Grimellec, C.; Cardenal, J.; Giocondi, M. C. y Carriere, S. (1981). Control of membrane lipids in *M. gallisepticum*: Effect on lipid order. *J. Bacteriol* 146: 155-162.
49. Levisohn, S. (1992). *Mycoplasmosis* in veterinary medicine: The role of *Mycoplasmas* in animal diseases. Jerusalem. Israel. Vet. 47.
50. Levisohn, S. y Kleven, S. H. (2000). Avian mycoplasmosis. *Rev Sci Tech.* 19 (2): 425-442.
51. Ley, D. H. y Yoder, Jr. H. W. (1997). *Mycoplasma gallisepticum* infection. En: *Diseases of Poultry.* 9th ed. Calnek, B. W.; Barnes, H. J.; Beard, C. H.; Mc Dougald, L. R. y Saif, Y. M. (eds.). Iowa State University Press, Ames, Iowa. pp: 194-207.
52. Ley, D. H.; Mc Laren, J. M.; Miles, A. M.; Barnes, H. J.; Miller, H. S. y Franz, G. (1997). Transmissibility of live *M. gallisepticum* vaccine strains ts-11 and 6/85 from vaccinatedlayer pullets to sentinel poultry. *Avian Dis,* 41: 186-193.
53. Lin, M. Y y Kleven, S.H. (1982). Cross immunity and antigenic relationships among five strains of *M. gallisepticum* in young leghorn chickens. *Avian Dis.* 26: 496-507.
54. Lin, M. Y y Kleven, S.H. (1984). Correlation of titer, preservation method, and storage of *M. gallisepticum* F strain and the response in chickens. *Avian Dis.* 28: 273-277.

55. Lo, S. C. (1992): Mycoplasmas in AIDS. En: Mycoplasmas: molecular biology and pathogenesis. Maniloff, J. (ed). pp. 525-545 .American Society for Microbiology. Washington, D.C.
56. Lo, S. C.; Hayes, M. M.; Kotani, H.; Pierce, P. F.; Wear, D. J.; Newton, P. B.; Tully, J. G. y Shih, J. W. (1993): Adhesión onto and invasión into mammalian cells by Micoplasma penetran: A newly isolated micoplasma from patients with AIDS. Mod. Pathol. 6: 276-280.
57. Lobo, Evelyn (2000). Aislamiento y caracterización de M. pullorum como cepa de nuevo reporte para el país. Tesis en opción al Título de Maestro en Microbiología Veterinaria. CENSA.
58. Lombardi, D. (1996). Eficacia de las vacunas aviares. Tecnología Avipecuaria (98): 28-32.
59. Miles, R. J. (1992). Cell nutrition and growth. En: Mycoplasmas. Maniloff, J. (ed). pp. 23-37. American Society for Microbiology. Washington, D. C.
60. Miles, R. J. Taylor, R. R. y Varsono, H. (1991). Oxygen up-take and H₂O₂ production by fermentative Mycoplasma spp. J. Med. Microbiol. 34: 219-223.
61. Miles, R. J.; Beezer, A. E. y Lee, D. H. (1986). The growth of M. mycoides subsp. mycoides in a salts solution: an ampoule microcalorimetric study. Microbiol. 45: 7-19.
62. Miles, R. J.; Wadher, B. J.; Henderson, C. L. y Mohan, K. (1988). Increased yields of Mycoplasma spp in the presence of pyruvate. Lett. Appl. Microbiol. 7: 149-151.
63. Nepomuceno da Silva (2000). Nuevos conceptos en el control de Micoplasma aviar. Avicultura profesional. 18 (2):15-17.
64. OIE-HANDISTATUS II (2001). Situación zoonosanitaria plurianual. <http://www.oie.int>.
65. Patala, P. S. (2000). Flock Health. CDR-An Update. Poultry Times of India, January, No. 10.
66. Razin, S. (1983). Introductory comments. En: Methods in Mycoplasmaology. Razin, S. y Tully, J. G. (eds). Vol. 1. pp. 185- 196. Academic Press. New York.
67. Razin, S. (1992). Mycoplasma taxonomy and ecology. En: Mycoplasmas: Molecular biology and pathogenesis. Maniloff, R. N. (ed). pp. 3-22. American Society for Microbiology. Washington, D.C.
68. Razin, S. (1995). Genome characterization and genetics En: Molecular and diagnostic procedures in Mycoplasmaology. Razin, S y Tully, J. G. (eds). Vol. 1. pp. 101-211. Academic Press, California.
69. Razin, S; Yoget, D. y Naot, Y. (1998). Molecular Biology and Pathogenicity of mycoplasmas. En: Microbiology and Molecular Biology Reviews, 62: 1094-1156. American Society for Microbiology.
70. Rodríguez, R. y Kleven, S. H. (1980). Pathogenicity of two strains of M. gallisepticum in broiler chickens. Avian Dis. 24:800-807.
71. Rodwell, A. W. (1983). Defined and partly defined media. En: Methods in mycoplasmaology. Razin, S. y Tully, J. G. (ed.). Vol.1 Academic Press. New York.
72. Rosado, Ileana. (2001). Obtención y evaluación de un candidato vacunal contra la infección por M. gallisepticum. Tesis en opción al Grado de Doctor de Ciencias Veterinarias. CENSA.
73. Saito, S., Fijisawa, A.; Ohkawa, S.; Nishimaura, N.; Abe, T.; Kodoma, K.; Kamogawa, K.; Aoyama, S., Iritani, Y. y Hayashi, Y. (1993). Cloning and DNA

- Sequence of a 29 kilodalton polypeptide gene of *M. gallisepticum* as a possible protective antigen. *Vaccine*, 11: 1061-1066.
74. Salami, J. D.; Addo, P.; Umoh, J. V. y Adegboye, D. S. (1992). Chicken mycoplasmosis: A review with special reference to *Mycoplasma gallisepticum* and *Mycoplasma synoviae*. *Vet. Bull.* Vol. 62 (6): 510-520.
 75. Sánchez, Lilian; Rosado, Ileana; Martínez, Arelides (1998). Evaluación de diferentes componentes del medio de cultivo para el crecimiento de *M. gallisepticum*. *Rev. Salud Anim.* Vol. 20 (3): 147-152.
 76. Shmuel, R.; Yogev, D. y Naot, Y. (1998). Molecular Biology and pathogenicity of mycoplasmas. *Microbiol. and Molecular Biology Reviews.* 62 (4): 1094-1156.
 77. Simmons, J. D. y Branton, S. L. (1988). Influence of F strain *M. gallisepticum* infection on response of commercial layer to heat exposure. *Avian Dis.* 32: 232-234.
 78. Soeripto; Whithear, K. G.; Cottew, G. S. y Harrigan, K. E. (1989). Virulence and transmissibility of *M. gallisepticum*, *Aust. Vet. J.* 66 (3): 65-72.
 79. Stipkovits, L. y Kempf, I. (1996). *Mycoplasmas* in poultry. *Rev. Sci. Tech. Off Int. Epiz.* 15(4): 1495-1525.
 80. Storm, P. K. (1995). *Mycoplasma vaccine*. Canadian Patent CA 1336262. Application number: 577610.
 81. Sundquist, B. G.; Czifra, G. y Stipkovits, L. (1996). Protective immunity induced in chickens by a single immunization with *M. gallisepticum* immunoestimulating complex (ISCOMs) *Vaccines.* 14: 892-97.
 82. Talkington, F. D. y Kleven, S. H. (1985). Evaluation of protection against colonization of the chickens trachea following administration of *M. gallisepticum* bacterin. *Avian Dis.* 29: 998-1003.
 83. Tully, J. G. (1992). *Mycoplasmas*. En: *Encyclopedia of Microbiology.* Lederberg, J. (ed.) Vol. 3. Academic Press, Inc. New York.
 84. Tully, J. G. (1995). Mollicute-host interrelationships: current concepts and diagnostic implications. En: *Molecular and diagnostic procedures in mycoplasmaology.* Tully, J. G. y Razin, S. (ed). Academic Press. Vol. 2. pp. 1-17. California.
 85. Turner, K. S. y Kleven, S. H. (1998). Eradication of live F strain *M. gallisepticum* vaccine using live ts-11 on a multi-age commercial layer farm. *Avian Dis.* 42 (2): 404-407.
 86. Whithear, K. G. (1996). Control of avian mycoplasmosis by vaccination. *Rev. Sci. Tech. Off Int. Epiz.* Vol. 15 (4): 1527-1553.
 87. Whithear, K. G.; Soeripto; Harrigan, K. E. y Ghiocas, E. (1990). Safety of temperature sensitive mutant *M. gallisepticum* vaccine. *Aust. Vet. J.* 67: 159-165.
 88. Yagihashi, T. y Tajima, M. (1986). Antibody responses in sera and respiratory secretions from chickens infected with *M. gallisepticum*. *Avian Dis.* 30: 543-550.
 89. Yagihashi, T.; Nunoya, T. y Tajima, M. (1987). Immunity induced with an aluminium hydroxide-absorbed *M. gallisepticum* bacterin in chickens. *Avian Dis.* 31: 149-155.
 90. Yagihashi, T.; Nunoya, T.; Sannai, S. y Tajima, M. (1992). Comparison of immunity induced with a *M. gallisepticum* bacterin between high-and low-responder lines of chickens. *Avian Dis.* 36: 125-133.
 91. Yamamoto, R. y Ghazikhanian, G. Y. (1997). *Mycoplasma meleagridis* infection. En: *Diseases of poultry* 10 ed. Calnek, B. W.; Barnes, J.; Berad, C. W.; Mc Dougald, L. R. y Saif, Y. M. (eds.). Iowa State University Press, Ames, IA.: 208-219.
- Pérez B., Tania; Rosado R., Ileana y Sánchez M., Lilian. **Vacunas contra *Mycoplasma gallisepticum*.** *Revista 24 Electrónica de Veterinaria REDVET* ®, ISSN 1695-7504, Vol. VII, nº 10, Octubre/2006, [Veterinaria.org](http://www.veterinaria.org) ® - [Comunidad Virtual Veterinaria.org](http://www.veterinaria.org) ® - Veterinaria Organización S.L.® España. Mensual. Disponible en <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet> y más específicamente en <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n101006.html>

92. Yoder, H. W. Jr. (1991). Mycoplasma gallisepticum infection. En: Diseases of Poultry. 9th ed. Calnek, B. W.; Barnes, H. J.; Beard, C. H.; Mc Dougald, L. R. y Saif, Y. M. (eds.). Iowa State University Press, Ames, Iowa. pp: 198-212.
93. Yoder, H. W.; Hopkins, S. R. y Mitchell, B. W. (1984). Evaluations of inactivated M. gallisepticum oil-emulsion bacterins for protections against airsacculitis in broilers. Avian Diseases. 28 (1): 224-234.

Trabajo recibido el 09/06/04/2006, nº de referencia 100626_RED VET. Enviado por su autor principal.
Publicado en REDVET® el 01/10/06.

(Copyright) 1996-2006. [Revista Electrónica de Veterinaria REDVET®](#), ISSN 1695-7504 - [Veterinaria.org®](#) - [Comunidad Virtual Veterinaria.org®](#) - Veterinaria Organización S.L.®

Se autoriza la difusión y reenvío de esta publicación electrónica en su totalidad o parcialmente, siempre que se cite la fuente, enlace con Veterinaria.org -[www.veterinaria.org](#) y [REDVET®](#) [www.veterinaria.org/revistas/redvet](#) y se cumplan los requisitos indicados en [Copyright](#)

Veterinaria Organización S.L.® ([Copyright](#)) 1996-2006 Email: info@veterinaria.org