

99
2 ej



Universidad Nacional Autónoma de México

Facultad de Estudios Superiores "CUAUTITLAN"
Medicina Veterinaria y Zootecnia

"AISLAMIENTO DE MICOPLASMAS A PARTIR DE SACOS
AEREOS DE POLLOS DE ENGORDA CON PROBLEMAS
RESPIRATORIOS."

T E S I S

Que para obtener el Título de
MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

P r e s e n t a

SILVESTRE MARQUEZ LOPEZ

Director: M.V.Z. PhD. Ariel Ortiz Muñiz



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

RESUMEN

En las inmediaciones de la ciudad de México se han observado granjas con depósito de pollos de engorda, que expusieron al público pollos clínicamente enfermos con graves problemas, tales como: Asfixia, estertores, inflamación ocular con exudado caseoso, boqueo, moqueo y lesiones patológicas consistentes en: Aerosaculitis, traqueítis ambas con exudado que va de mucoso a caseoso, las vísceras en casos graves se encontraron con exudado fibrino-caseoso. Estas aves si pasaran por inspección sanitaria en rastros autorizados, serían objeto de decomiso en su mayoría.

Al evaluar el cuadro clínico general de las parvadas junto con un muestreo al azar, en base a lesiones patológicas y aunado a la consulta de literatura bacteriológica, se diagnosticó tentativamente que en estas infecciones respiratorias podían estar involucrados micoplasmas, pero como se sabe el cuadro clínico y las lesiones a la necropsia son inespecíficos, ya que hay otros microorganismos como virus y bacterias que pueden causar cuadros respiratorios similares.

Los micoplasmas reportados en la literatura involucrados en problemas respiratorios como agentes patógenos en pollos de engorda son: Mycoplasma gallisepticum y Mycoplasma synoviae, ambos son encontrados en afecciones respiratorias complejas en donde intervienen factores predisponentes, infecciones intercurrentes de tipo viral, además de la asociación de bacterias oportunistas que complican más el cuadro clínico general de la parvada.

Se sabe que el aislamiento e identificación de micoplasmas es problemático, ya que en México no se cuenta con un la

boratorio de referencia, teniendo además que tomar en cuenta los siguientes factores: Tratamiento indiscriminado de antibióticos de que son objeto los pollos de engorda durante su desarrollo; la presentación crónica de la enfermedad en la cual bacterias de asociación se hacen presentes en los tejidos previamente infectados por micoplasmas, haciendo imposible el aislamiento de estos; la sensibilidad de los micoplasmas a factores ambientales como temperatura, cambios de pH en el medio de cultivo; requerimientos nutritivos vitales y la forma del procesamiento de la muestra.

Otra limitante para realizar una investigación a fondo es que las granjas no proporcionan las muestras, dificultando aun más el estudio.

CONTENIDO

INTRODUCCION

I)	GENERALIDADES	3
II)	TAXONOMIA	4
III)	MICOPLASMAS AVIARES	5
	A) <u>Mycoplasmas gallisepticum</u>	6
	B) <u>Mycoplasma synoviae</u>	11
IV)	OBJETIVO	29
V)	MATERIAL Y METODOS	30
VI)	RESULTADOS	38
VII)	DISCUSION	42
VIII)	CONCLUSIONES	45
IX)	LISTA DE CUADROS, TABLAS Y FIGURAS	46
X)	BIBLIOGRAFIA	58

I N T R O D U C C I O N

I) GENERALIDADES

Las enfermedades producidas en pollo de engorda por micoplasmas son: Enfermedad Crónica Respiratoria (ECR) y Sinovitis Infecciosa (SI), ambas repercuten económicamente en la avicultura porque sus lesiones son causa de decomiso durante la manutención (3,23,30,31,37,45,65,71,87).

La observación de estas enfermedades en granjas avícolas puede ser debido a factores predisponentes como la crianza de un gran número de aves en una área pequeña, mal manejo de la granja tanto en el programa de alimentación, así como de vacunación, del control del microclima de las casetas, factores ambientales e instalaciones inadecuadas (23,30).

Los signos clínicos y lesiones a la necropsia son inespecíficos, pudiéndose confundir con otras enfermedades producidas por virus de Newcastle, Bronquitis Infecciosa, Viruela, La ringotraqueitis Infecciosa y por bacterias como Haemophilus spp Pasteurella spp (19,23,30,31,44,48). Por lo cual adquiere enorme valor el aislamiento e identificación del agente así como el diagnóstico serológico.

Hasta la fecha el tratamiento con antibiótico no a conseguido la completa curación de los animales afectados por lo cual se recomienda la profilaxis en las granjas, en los primeros días de edad del pollito utilizando principalmente: Tilosina, Tiamulin, Lincomicina, Kitamicina y Espectomicina entre otros (3,11,23,30,46,50,55,67,70,84,87).

La inmunización específica es de nula efectividad debido a la dificultad de preparar vacunas inactivadas con la nece

saria estabilidad y baja viscosidad (68).

En si evitar los factores predisponentes y el correcto empleo de todos los métodos de sanidad, desinfección, así como el análisis bacteriológico y parasitológico en base a coprocultivos de pollitos, actúan favorablemente disminuyendo las pérdidas económicas debidas a las infecciones de micoplasmas aviares. Sin embargo el control de estas enfermedades radica en la eliminación de aves reproductoras positivas (3,25).

II) TAXONOMIA

Los micoplasmas son los más simples y diminutos organismos procariotes de vida libre que por sus diferencias fundamentales con respecto a la clase Schizomicetos, se agrupan en una clase diferente: Los Mollicutes (debiendo ser establecida para el Orden Mycoplasmatales, paralelo pero distinto de la clase Schizomicetos) (26,66).

El término de organismo PPLO (Pleuropneumoniae like organism) fué aplicado a estos microorganismos por mucho tiempo debido, a que se parecían en cuanto a morfología al agente aislado por Nocard en 1898 de casos de Pleuroneumonia Contagiosa Bovina (CBPP). Este término PPLO fué sustituido oficialmente por el de micoplasma (26,66).

Los micoplasmas son extremadamente pleomórficos y pueden aparecer en forma de cocos, filamentos, espirilos, anillo glóbulos y gránulos. Esta plasticidad es el resultado de su falta de pared celular (20). Siendo la forma básica la de cocos, pero la forma transitoria es la de filamentos. Son Gram negativos, pero se tiñen muy levemente con la tinción de Gram, prefiriéndose teñir con Giemsa principalmente. Las colonias que forman son pequeñas y tienen tendencia a crecer por debajo del agar, son bi

fásicas con apariencia de "huevo frito" de 10 a 60 micras de diámetro. Para su observación se utiliza tinción de Dienes (23, 67,87).

a) Características Serológicas

Los micoplasmas como no tienen pared celular exhiben poca inmunidad específica, así como escasa antigenicidad, a esto se debe que en infecciones naturales por micoplasmas produzcan bajos títulos de anticuerpos específicos y también es atribuido a la naturaleza crónica la enfermedad. Sin embargo muchos micoplasmas parecen estimular una respuesta de inmunidad celular (66, 70). Las pruebas serológicas empleadas para la identificación de micoplasmas se mencionan en el cuadro I (3,4,28,43,59,61,64,65, 87,88). Las causas de reacciones serológicas no específicas observadas al efectuarse la prueba de aglutinación rápida en placa (PARP), son enlistadas en cuadro II (30,70). Y las características que los diferencian de las formas "L" de bacterias se mencionan en el cuadro III (23,27,66).

Después del primer aislamiento de un micoplasma como agente patógeno, se han realizado investigaciones en el hombre y en diferentes especies animales, reconociéndose diferentes micoplasmas como agentes etiológicos de algunas enfermedades (18). En caso particular de aves (pollo, gallina, pavos, patos y aves silvestres) además de los micoplasmas patógenos, se han aislado micoplasmas y acholeplasmas que no tienen importancia etiológica, cuadro IV y V.

III) MICOPLASMAS AVIARES

El único miembro aviar registrado originalmente fué Mycoplasma gallinarum, una especie no patógena, sin embargo durante años recientes aproximadamente 20 serotipos de micoplasmas de

procedencia aviar han sido caracterizados (8,9,87,88). La clasificación de todos los serotipos aviares y su agrupación antigénica se observa modificada por la utilización de diferentes técnicas serológicas (cuadro VI,VII,VIII). De todos estos serotipos aislados, los más comunmente asociados a enfermedades en pollo de engorda son : Mycoplasma gallisepticum y Mycoplasma synoviae.

A) Mycoplasma gallisepticum

La descripción de infecciones mixtas en las cuales se involucra Mycoplasma gallisepticum, observandose manifestaciones clínicas y patológicas en el pollo de engorda, que resultan en el decomiso de la canal por mal aspecto es la siguiente:

Mycoplasma gallisepticum es el agente etiológico de la Enfermedad Crónica Respiratoria en pollos de engorda, pero para que se observe este complejo respiratorio, debe existir una serie de secuencias de factores predisponentes y de infecciones intercurrentes de microorganismos, haciendo que el cuadro de la enfermedad sea más drástico (18,20,31), cuadro X y figura 1.

Los factores predisponentes principales son bajas temperaturas, humedad alrededor de 80%, exceso de amonio o polvo en la caseta, estres del manejo al vacunar, deficiencias nutricionales, esto hace que las defensas del organismo bajen y se establezcan agentes desencadenantes principalmente virus de baja patogenicidad o por la reacción post-vacunal de virus de Newcastle y Bronquitis Infecciosa, por lo cual se exacerba Mycoplasma gallisepticum, llegando a infectar sacos aéreos y una vez sensibilizados se establece Escherichia coli en esta zona ocasionando un cuadro patológico más grave. También pueden asociarse otras bacterias como Proteus spp, Haemophilus spp, Salmonella spp (2 ,

23,30,87).

Tiene sinergismo con Haemophilus paragallinarum, el cual por si solo produce Coriza Infecciosa, pero aunado a la acción de Mycoplasma gallisepticum se produce Coriza del tipo III o Coriza Infecciosa Mixta (62).

a) Características Morfológicas.

El organismo se tiñe bien con Giemsa y es débilmente Gram (-), es generalmente cocoide, mide aproximadamente de 0.25-0.5 micras, aunque puede haber otras formas pleomórficas (36,87, 88).

Las colonias se muestran como masas circulares translúcidas, lisas con una área central densa elevada, miden aproximadamente de 0.2 a 0.3 mm de diámetro y se estudia su morfología por el método de tinción de Dienes (3,23,26,67,87), la cual se observa con microscopio estereoscópico con luz indirecta a 30 aumentos, observándose en el centro de la colonia una coloración más intensa (67). Se utiliza además para diferenciarlas de otras morfologías coloniales parecidas y artefactos de laboratorio (26, 66,87).

b) Características Bioquímicas

Las propiedades bioquímicas de crecimiento y resistencia son descritas en la Tabla I.

c) Características Antigénicas

Solo hay un tipo antigénico del microorganismo, pero con variaciones de las cepas en cuanto a virulencia, considerándose a la Cepa S 6 como la patógena estandar (4,5,6,9,10,14,19, 20,34,50,55,57,59,63,71,81). Esta cepa ha demostrado además tener una mayor antigenicidad entre los numerosos aislamientos de Mycoplasma gallisepticum (4,5,6,9,10,14,19,20,34,50,55,59,63,71, 81). Y es la que se utiliza en México para hacer pruebas de -

aglutinación (67).

d) Resistencia a Agentes Físicos y Químicos

Es muy susceptible al calor, y a muchos de los desinfectantes comunes, son sensibles a los efectos líticos de los de tergentes.

Por su resistencia a la Penicilina y a la baja con -
centración de acetato de talio (1:4000), éstas sustancias se adi
al medio de cultivo para aislamiento de micoplasmas como inhibi-
dores de contaminantes bacterianos.

A un pH de 5.5 es destruído en 24 horas y si está en
un pH de 5.8 a 6.2 tarda de 5 a 7 días en morir. Permanece via -
ble en heces de pollo durante 3 días a 20°C (3,23,87).

e) Epizootiología

La infección de Mycoplasma gallisepticum sucede en
forma natural en pollos, gallinas y pavos, pero también se ha -
aislado de infecciones naturales en faisanes, perdiz, pavo real,
y codorniz; la paloma es hospedador susceptible.

Afecta principalmente pollos de 3 a 8 semanas, enfer -
mandose con mayor rapidez los pollitos. El período de incubación
experimentalmente varía de 4 a 21 días, pero bajo condiciones na
turales es muy difícil determinarlo. La mortalidad en pollo de
engorda es baja en la enfermedad no complicada y llega a un 30 %
en brotes complicados. Es de distribución mundial, observandose
las formas más graves de la enfermedad en los meses de Otoño e
Invierno (87).

f) Patogenicidad

Inoculación Experimental.- Los aislamientos de Myco-
plasma gallisepticum varían en su relativa patogenicidad depen -
diendo la naturaleza del aislamiento, método de propagación y nú
mero de pases finales en los cuales ha sido mantenido. La vía de

infección y tipo de hospedadores así como el número de gérmenes involucrados son también factores que influyen en la observación de grados de patogenicidad. Los cultivos en yema de huevo tienen mayor capacidad de producir infección que el pase en caldo (31, 88). En estudios citados por Yoder Jr (en 1964), se encontró que la inoculación de la cavidad tendovaginal en la región del tarso y cojinete del pollo resulta en la producción de anticuerpos y usualmente severa o moderada tendovaginitis.

La inoculación de cultivos en caldo o exudados conteniendo Mycoplasma gallisepticum en embriones de 7 días vía saco vitelino, resulta en muerte embrionaria dentro de 5 a 7 días y es necesario que el germen tenga de 1 a más pases en saco vitelino para producir muerte y lesiones típicas como: empequeñecimiento, edema generalizado, y necrosis del hígado (3,14,57,87).

g) Difusión

Hay dos tipos:

La Transmisión Vertical.- Ocurre cuando la infección es por la vía del ovario u oviductos infectando al huevo.

La Transmisión Horizontal.- Se presenta cuando aves infectadas están en contacto con aves sanas. La difusión de ave a ave en una caseta es usualmente rápida, pero las paredes forman barreras efectivas y con dichos impedimentos, la difusión de de parvada a parvada en el mismo lugar, puede ser muy lenta o no ocurrir (30). La diseminación por contacto con equipo infectado no ha sido bien documentado (87).

h) Patogénesis

Se ha observado que el microorganismo tiene tropismo por los epitelios del aparato respiratorio, principalmente de sacos aéreos y tráquea, sin embargo no se conoce con exactitud el mecanismo por el cual produce la enfermedad (30,87).

i) Signos Clínicos

Los más comunes están asociados con enfermedad del aparato respiratorio e incluyen coriza, estertores, estornudos, -descargas nasales con exudado, respiración con el pico semiabierto, hay conjuntivitis ligera con exudado espumoso en el ojo pudiendo ser el único signo de coriza o puede ser un estadio temprano de una enfermedad más grave, todo esto aunado a retardo en el crecimiento y baja de peso (3,23,30,31,87).

Las Lesiones Macroscópicas pueden ser tan leves en el aparato respiratorio que llegan a ser imperceptibles o bien consisten únicamente en exceso de exudado mucoso o catarral en orificios nasales, tráquea y pulmón, los sacos aéreos presentan edema o exudado caseoso, aunque pueden presentar solamente una reacción espumosa o apariencia folicular. Puede haber formación de ampollas en la pechuga con exudado mucopurulento. En la enfermedad complicada las lesiones son más graves, presentándose inflamación de tráquea, pericarditis y perihepatitis fibrino-purulenta, acompañada por una aerosaculitis con exudado fibrino-purulento. Ocurre tendosinovitis y artritis en donde hay inflamación y edema del tejido periarticular, además exceso de fluido claro o turbio en la articulación tibio-tarsiana y erosión del cartílago articular (30,87).

Lesiones Microscópicas: La mucosa de los cornetes nasales presenta una ligera infiltración granulocítica la cual es reemplazada rápidamente por células linfoides. La infección de la tráquea se caracteriza por infiltración de la lámina propia por células linfocíticas. Careciendo de mecanismos de defensa, los sacos aéreos sufren cambios patológicos severos y progresivos con un aumento de los granulocitos y proliferación de tejido conjuntivo y epitelial (3). Eventualmente los granulocitos dejan

sitio a células mononucleares e islotes linfoides. En hígado las lesiones se caracterizan por hiperplasia celular perivascular y periportal de células reticulares (3,87).

B) Mycoplasma synoviae

Es un importante patógeno de pollos de engorda asociado a Sinovitis Infecciosa (SI) aguda o crónica, envolviendo primeramente las membranas sinoviales de articulaciones y vainas de tendones produciendo una sinovitis exudativa, tendosinovitis o bursitis (70). Pero otros microorganismos también pueden ocasionar sinovitis como Mycoplasma gallisepticum, Virus Artrítico y bacterias (35,70,87). Sin embargo la infección de Mycoplasma synoviae a tomado mayor importancia, porque se le asocia también a la producción de inflamación de sacos aéreos y problemas respiratorios (30,70).

Se describe a Mycoplasma synoviae involucrado en infecciones mixtas, presentando sinergismo con el virus de Newcastle y Bronquitis Infecciosa para producir severa inflamación de sacos aéreos (30). Comprobándose lo anterior con la simultánea -vacunación de Newcastle y Bronquitis Infecciosa y subsiguiente -exposición de Mycoplasma synoviae a los 4 días, resultando en una incidencia de inflamación de sacos aéreos y además deprimiendo crecimiento y conversión alimenticia (37,70). Pero no es así cuando se inocula primero Mycoplasma synoviae y 5 días después -se vacuna con Newcastle y Bronquitis Infecciosa (70). La aplicación sola de Bronquitis Infecciosa no puede exaltar una infección latente de Mycoplasma synoviae, hacia una enfermedad sistémica (40). En contraste Mycoplasma synoviae combinado con Bronquitis Infecciosa o Escherichia coli y Bronquitis Infecciosa cau

san un incremento en mortalidad con heterofilia e infiltración folicular linfoide en pollos gnotobióticos (70).

La exposición de pollos de un día de edad al virus - de la enfermedad de Gumboro ocasiona una inmunosupresión hacia Mycoplasma synoviae, resultando en un incremento en susceptibilidad a infecciones de sacos aéreos (11,29).

No hay reportes en la literatura de Mycoplasma synoviae asociado a infecciones mixtas para producir Sinovitis Infecciosa.

a) Características Morfológicas

En tinciones preparadas con Giemsa Mycoplasma synoviae se muestra como un cuerpo cocoide pleomórfico o bastón, mide aproximadamente 0.2 micras de diámetro y 0.4 micras de longitud (87).

Las colonias son circulares, entrelazadas con centro elevado, miden de 1 a 3 mm de diámetro, esto depende del número de colonias presentes, tipo de medio, edad del cultivo (87).

b) Características Bioquímicas

Fermenta glucosa y maltosa con producción de ácido , pero no de gas. No fermenta dulcitol, salicín o trehalosa, presenta limitada habilidad en reducir sales de tretazolium. Algunas cepas tienen propiedad hemoaglutinante y producen peróxido de hidrógeno (71). Requiere la adición estricta de Nicotin Adenin Dinucleótido (N.A.D) en el medio de cultivo para su crecimiento (54,74).

c) Características Antigénicas

Solo existe un serotipo, el cual es conocido como S, pero hay una amplia variedad en virulencia dentro de las cepas y ser antigénicamente diferente entre ellas. A varias cepas se les ha demostrado producir aerosaculitis y sinovitis (30,40).

d) Resistencia a Agentes Físicos y Químicos

Sus características de resistencia son similares a las de Mycoplasma gallisepticum, pero distinguiéndose en que no es estable a un pH de 6.9, es sensible a temperatura superior de 37°C (87), resiste al congelamiento y su título de viabilidad no se reduce, si se le adiciona al medio de cultivo sucrosa (70).

e) Epizootiología

Los hospedadores naturales son las aves y pavos, los pollos de engorda son más susceptibles a sinovitis que la crianza de postura. Se ha reproducido en el faisán, no son susceptibles a inoculación experimental los conejos, ratas, ratones, cerdos y corderos (87). Las aves muestran susceptibilidad a la infección a diferentes edades, se ha observado precozmente a una semana de edad (87), pero generalmente la fase aguda de la enfermedad es observada en aves de 4 a 16 semanas y esta puede ser seguida por una prolongada fase crónica que dura de 5 años o más (70,87). El período de incubación varía entre 2 a 21 días conforme a la ruta de exposición (30,70).

Con respecto a los factores predisponentes, no se sabe si son de significancia en la presentación de Sinovitis Infecciosa. Pero el gran número de decesos por aerosaculitis debido a Mycoplasma synoviae, ocurre durante los meses de invierno, indicando que los factores ambientales como temperatura, humedad, amoníaco y polvo están involucrados, así como virus de la enfermedad de Newcastle y Bronquitis Infecciosa y aún moderadas cepas - vacunales actúan con sinergismo con este micoplasma para causar problemas respiratorios (70). La morbilidad en forma sinovítica varía de 0 a 75% con promedio de 20% y la mortalidad es baja (31) Otros reportes indican, mortalidad de 2 a 6% y morbilidad de 2 a 75% con promedio de 20% en infecciones naturales (35,87).

f) Patogenicidad

Puede variar con las diferentes cepas, se reporta - que la cepa WVU 1853 fué más apta en producir lesiones en articulaciones, mientras que la cepa F10 2AS fué más apta en producir lesiones en sacos aéreos (44). La vía de infección influye sobre la patogenicidad, siendo la inoculación de la almohadilla del pie y la intravenosa, las más idóneas para causar sinovitis. Y la inoculación dentro de los sacos aéreos o por aerosol resultan en la inflamación de sacos aéreos (41,79).

Osteoartritis degenerativa, tendovaginitis, sinovitis e inhibición de la formación de hueso sesamoideo fué observada en un estudio radiológico, al inocular Mycoplasma synoviae en la almohadilla del pie (53).

Lesiones localizadas y una alta respuesta serológica pero con una mínima diseminación se observó en aves susceptibles después de inocular a la almohadilla del pie. Al inocular vía intravenosa, se encontro menos lesiones con moderada diseminación. No observandose lesiones, pero si incrementada diseminación después de la inoculación intranasal o por exposición al aerosol (78).

g) Difusión

Estudios sobre este aspecto reportan que la transmisión vertical (a través del huevo), juega el mejor papel en la diseminación de Mycoplasma synoviae. Pudiendo ocurrir también la transmisión horizontal (por contacto directo) vía aparato respiratorio (30,52,70,87).

Reportes sobre la demostración del agente infeccioso en la sangre de mosquitos y ácaros en conjunto con el aislamiento del microorganismo en sangre de aves infectadas experimentalmente con mosquitos y ácaros, sugiere el papel de artrópodos en

la transmisión de Mycoplasma synoviae (70,87).

h) Patogénesis

El gérmen entra a través del embrión infectado y también vía aparato respiratorio. La difusión hematógena ocurre y el gérmen muestra afinidad por el tejido sinovial y respiratorio (30). Las tóxicas de Mycoplasma synoviae, no han sido evaluadas pero la anemia producida en pollos hace pensar, ser el resultado de un principio tóxico como el peróxido de hidrógeno (70). La unión de Mycoplasma synoviae a eritrocitos permiten una alta concentración de tóxica, que puede difundirse dentro de las células y acortar su lapso de vida. La localización de los gérmenes con sus productos metabólicos en los tejidos pueden servir como un estímulo de atracción heterofílica. Esta liberación de enzimas proteolíticas pueden causar la acumulación de material caseoso - alrededor de tendones, además de esta reacción la resistencia - del antígeno (micoplasma) puede explicar la acumulación de linfocitos, células plasmáticas y macrófagos. No encontrándose la evidencia de que reacciones de hipersensibilidad o complejos inmunes, estén implicados en la patogénesis y lesiones en el pollo - por infección con Mycoplasma synoviae (70).

i) Signos Clínicos

En la forma sinovítica, los primeros signos incluyen palidez de la cresta, cojeras, retardo en el crecimiento, deshidratación, emaciación, se observa hinchazón alrededor de articulaciones especialmente en las áreas del corvejón y almohadilla - del pie, encontrándose en esta última una zona de necrosis en el centro de la almohadilla del pie. En algunos casos todas las articulaciones están involucradas. La observación de ampollas en la pechuga son comunes, hay decoloramiento verdoso de las heces fecales. Estos signos agudos pueden ser seguidos por lenta recu-

peración, pero la sinovitis puede continuar por un largo tiempo (3,30,36,70,87).

Los estudios sobre la infección respiratoria reportan que a los pollos infectados vía respiratoria, se les puede oír leves estertores o pueden ser asintomáticos (70), sin embargo otro estudio reporta que la infección tiene un cuadro similar a la infección que produce Mycoplasma gallisepticum (30).

Lesiones Macroscópicas.- Hay exudado viscoso de color cremoso a gris envolviendo las membranas sinoviales de las articulaciones, quilla bursal y vainas de tendones (3,30,36,70,87). A medida que progresa la enfermedad, el exudado se torna caseoso (87). Puede también ocurrir en casos crónicos una inhibición de huesos sesamoideos y una osteoartritis degenerativa (30,36,70). Cuando las aves se encuentran emaciadas y deshidratadas, sus articulaciones no tienen fluido. En casos crónicos la superficie de las articulaciones afectadas son frecuentemente amarillas o naranjas (87).

Se observa ocasionalmente considerable mucosidad en la tráquea, los límites de los sacos aéreos se engruesan por un exudado amarillo blanquecino. Hay generalmente esplenomegalia, hígado aumentado de tamaño, moteado, con una leve coloración verde metálico y a veces pálido. También puede haber endocarditis, lesiones valvulares y anemia (36,70).

Las Lesiones Microscópicas coinciden principalmente en una hiperplasia reticuloendotelial con varios grados de infiltración heterofílica en riñones, bursa, cerebro, timo, médula ósea, hígado. Cambios hematológicos incluyen monocitosis, heterofilia, anemia, con bajo conteo de valores de leucocitos y hemoglobinuria (36,70).

j) Inmunidad

Para ambos micoplasmas los anticuerpos maternos se transmiten vía sanguínea a través del saco vitelino al embrión y se mantiene un buen nivel de anticuerpos durante 2 semanas, coincidiendo que a los 21 días de edad del pollo, los niveles de anticuerpos se encuentran disminuídos, pero el sistema inmunocompetente ha desarrollado ya su función inmunitaria (56).

Reportes de investigaciones sobre Mycoplasma gallisepticum indican que el pollo es relativamente resistente a la infección por vía respiratoria, porque la mucosa de sus cornetes nasales tienen mecanismos de defensa, pero si los microorganismos se sitúan en la mucosa traqueal el daño a este sitio será más intenso que en la mucosa de los cornetes. Y la migración de los gérmenes se ve favorecida hacia los sacos aéreos porque estos carecen de mecanismos de defensa, sufriendo cambios patológicos severos y progresivos (3). Lo anterior es reforzado por un estudio que se hizo sobre la aparente habilidad de una bacterina de Mycoplasma gallisepticum, para proteger contra dicha infección, pero no contra Coriza Mixta y Aerosculitis (62). Por lo tanto la acción protectora de la IgA es importante a nivel de enfermedades respiratorias. Con referencia a lo anterior se han hecho estudios que afirman el hallazgo de IgA en las secreciones externas, saliva, lagrimas, bílis, fluído intestinal, lavados de tráquea, bronquios, fluído seminal, del oviducto, orina, placa de Peyer, glándula Harderian y en la lámina própia de la mucosa del intestino, siendo estas dos últimas donde hay buena producción de IgA (56).

Con respecto a Mycoplasma synoviae, se reporta que la inoculación del virus de la enfermedad de Gumboro en pollos de un día de edad, seguida de la inoculación de Mycoplasma syno-

viae a los 14 días, resulta en una severa depresión en la respuesta humoral de anticuerpos hacia Mycoplasma synoviae, esto es debido a la destrucción extensiva de las células B, interfiriendo con la capacidad del pollo para mantener una respuesta inmune humoral y también resultan las aves inoculadas ser más susceptibles a aerosaculitis (12,29).

La timentomía reduce la severidad de la sinovitis causada por inoculación de Mycoplasma synoviae dentro de la articulación tibiometatarsal, sugiriendo que células timo-dependientes (Linfocitos) están implicadas en el desarrollo de estas lesiones (56).

La previa inoculación de Mycoplasma synoviae por vía intranasal y más tarde una segunda inoculación por vía de la almohadilla del pie, se induce inmunidad local al no observarse modificaciones patológicas al inocular a la almohadilla del pie (51).

Las lesiones en sacos aéreos se incrementan en pollo bursectomizado (28). En otro estudio citado por Timms en 1978 (70), se sugirió que la resistencia a Mycoplasma synoviae es dependiente de la bursa con células del timo atrayentes, como "ayudantes" o con papel citotóxico.

Demostrándose la respuesta inmune mediada por células, en infección natural y experimental usando la prueba de la Migración de Leucocitos, desarrollándose una respuesta en la segunda semana de infección con producción de anticuerpos inhibidores de la migración y continúa con la producción de inmunoglobulinas por 6 a 12 meses (70).

En adición a la respuesta serológica se observa un incremento total de la fracción gammaglobulina en el suero, concomitando con un decremento significativo en albúmina del suero

de aves infectadas (87) y el factor reumatoide está presente en asociación con incremento de B₂ macroglobulinas (70).

k) Diagnóstico

Los procedimientos de diagnóstico para establecer la presencia de la infección por Mycoplasma gallisepticum y Mycoplasma synoviae son los siguientes:

- 1) Clínico
- 2) Laboratorio
- 3) Serológico

1) Las infecciones de Mycoplasma gallisepticum y Mycoplasma synoviae, se pueden identificar por los signos clínicos observados en las aves, aunado a lesiones a la necropsia e histopatología, pero estas consideraciones son bastante inespecíficas y se pueden confundir como resultado de otras enfermedades (23,30,87). Sin embargo puede ser un diagnóstico presuntivo al observarlas, pendiente de los resultados del examen serológico y del aislamiento de los micoplasmas respectivamente.

2) El aislamiento e identificación respectivamente de ambos micoplasmas a partir de infecciones confirma el diagnóstico clínico, siendo fácil en aves con fase aguda de la infección, que en la fase crónica donde es difícil o imposible el aislamiento (87).

Los aislamientos en particular de ambos micoplasmas a partir de tejidos infectados son principalmente: Tráquea, senos nasales, sacos aéreos, pulmones, bursa esternal y articulaciones.

Para realizar los aislamientos se hace un campo estéril de trabajo y se siembran directamente las muestras de tejidos afectados en medios para micoplasma, o se hacen primero macerados.

raciones de los tejidos afectados en un mortero estéril conteniendo solución buffer de fosfatos (P.B.S.) estéril, se centrifuga y el sobrenadante se cultiva en tubos que contengan medio líquido para micoplasma, compuesto de 10 a 20% de suero de equino, cerdo o ave, estéril e inactivado por calor. Además debe contener los siguientes nutrientes, que pueden variar de acuerdo al método que se utiliza para la preparación del medio de cultivo y son los siguientes: Caldo PPL0, Infusión de Cerebro y Corazón, Sales de Eagle, Glucosa, Levadura y Agar Noble cuando se quiere preparar medio sólido. Ambos medios tendrán un pH óptimo de 7.8. También al medio líquido y al medio sólido, se le adiciona rojo de fenol para hacer posible la detección de crecimiento, así como la adición de penicilina para inhibir bacterias contaminantes (5,8,9,20,26,28,43,69,85).

En caso de Mycoplasma synoviae, al medio de micoplasma se le tiene que adicionar asépticamente Nicotin Adenin Dinucleótido (N.A.D.) en forma reducida, en una concentración de .1 gr.por litro de medio (54,74), ya que la administración de levadura no da buenos resultados (87). Pero el N.A.D. puede ser sustituido por Nicotinamida a una concentración de 25 mg/Lt., sin perjudicar las propiedades de promoción del crecimiento, además teniendo la ventaja de que es más barata y estable, pudiéndose esterilizar junto con el medio (16).

Los medios líquidos inoculados son incubados a 37°C durante 3 a 7 días y después de observarse un leve viraje de coloración, se pasa el cultivo a medio sólido y la formación de colonias requiere una incubación de 3 a 7 días a 37°C con una atmósfera de 5 a 10% de CO₂.

Se recomienda que para el buen aislamiento de ambos micoplasmas, primero se inoculen a embriones de pollo de 5 a 7

días de edad. A una dilución de 1:5 a 1:10 de exudado o sobrenadante de órganos macerados, inoculándose la cantidad de .025 ml, vía saco vitelino, posteriormente la yema o fluido alantoi - deo o ambos son cosechados de embriones muertos y se siembran directamente sobre medio sólido.

Los aislamientos obtenidos son purificados para subsecuente tipificación con pruebas serológicas, como son el aprovechamiento de azúcares, así como valorar la dependencia de este roles, la producción de peróxido de hidrógeno, la habilidad hemaglutinante. Después estas cepas puras son sembradas en cultivos seriados de medio líquido, empezando con un volumen pequeño hasta aumentarlo a un litro de medio líquido con cultivo, para obtener una mayor cantidad de microorganismos. Siendo cosechados por centrifugación y resuspendidos en P.B.S. estéril a un pH de 7.2 y se puede utilizar para : a) Obtención de antígeno y suero antimicoplasma, para utilizarlos en pruebas serológicas de diagnóstico.

3) Los procedimientos serológicos son utilizados - en apoyo al diagnóstico de Mycoplasma gallisepticum y Mycoplasma synoviae, siendo las pruebas serológicas que se utilizan para establecer la presencia de una respuesta inmune en las parvadas afectadas, las mencionadas en el cuadro I (3,4,8,28,43,59,61,64, 65,87,88). Siendo las pruebas más comunmente empleadas : Aglutinación Rápida en Placa (ARP); Aglutinación en Tubo (AT); Inhibición de la Hemoaglutinación (IHA), (3,15,30,43,49,61).

En la prueba de Aglutinación Rápida en Placa, el antígeno teñido preparado de organismos de Mycoplasma gallisepticum o Mycoplasma synoviae y el suero de pollo sospechoso son mezclados en una placa de porcelana o vidrio. Se observa aglutinación como resultado de una reacción Antígeno-Anticuerpo. Las

causas de reacciones serológicas no específicas observadas al efectuar esta prueba, es debido a una variedad de factores asociados con el suero y preparación del antígeno, pudiendo influir en la exactitud de la prueba (30) Cuadro II. Pero aún así la prueba se considera de valor para indicar infección en la parvada - más que infección de aves en particular. La preparación del antígeno de Mycoplasma synoviae debe ser preparado en medio que contenga N.A.D (54) o Nicotinamida (16).

La prueba de Aglutinación en Tubo es más segura que la prueba de Aglutinación Rápida en Placa (5). Y la prueba más - sensible es Inhibición de la Hemoaglutinación, ya que no detecta reacciones inespecíficas, utilizándose como prueba confirmatoria de los resultados de la prueba de Aglutinación Rápida en Placa (3,64,87). A causa de esta especificidad puede ser usada la prueba de Inhibición de la Hemoaglutinación, para diferenciar entre Mycoplasma gallisepticum y Mycoplasma synoviae a partir de aves infectadas.

Sobre la detección de inmunoglobulinas, la prueba de Aglutinación Rápida en Placa es eficiente en detectar anticuerpos del tipo IgM y relativa insensibilidad a detectar IgG. La prueba de Inhibición de la Hemoaglutinación reacciona con anticuerpos del tipo IgG. Y solamente la prueba de Aglutinación en Tubo es efectiva en detectar anticuerpos de ambas clases de inmunoglobulinas (39,40).

Junto con el suero de las aves enviadas para necropsia, debe examinarse el suero de por lo menos otras 10 aves del mismo lote. Generalmente el suero para la detección de anticuerpos debe ser obtenido de aves de por lo menos de 4 semanas de edad. Si las pruebas en aves muy jóvenes revelan resultados positivos bien definidos, se puede usar esta información en unión de

alguna otra evidencia para llegar al diagnóstico. Las reacciones positivas en pollos de menos de 4 semanas de edad no pueden considerarse determinantes, debe hacerse notar que los anticuerpos pasivos contra micoplasma pueden estar presentes durante 2 semanas en el suero del pollito procedentes de gallinas infectadas. Estas aglutininas pueden presentarse tanto en aves infectadas como no infectadas y su presencia en el suero del pollo no indica necesariamente una infección activa. De hecho, en infecciones complicadas las lesiones pueden ser microscópicas, sin embargo las aves infectadas que no presenten signos clínicos, tendrán aglutininas específicas en su suero.

La presencia de lesiones y de aumento en el título de aglutininas en los mismos individuos durante un período de 2 semanas, será una buena evidencia para el diagnóstico tentativo de una infección activa (3).

La detección del incremento de anticuerpos se ve afectada por el uso de antibióticos en la prevención de la infección en la parvada o como tratamiento. Sin embargo altos niveles de antibióticos no alteran la respuesta serológica ya estando las aves serológicamente positivas a la infección por micoplasma (50).

1) Diagnóstico Diferencial

Las infecciones en las cuales se involucran respectivamente ambos micoplasmas patógenos, se manifiestan por producir signos y lesiones inespecíficas, siendo difícil hacer un buen diagnóstico clínico ya que otros microorganismos actúan como entidad etiológica de una enfermedad o como microorganismos de asociación produciendo afecciones respiratorias. Siendo los microorganismos involucrados con manifestaciones respiratorias los siguientes: Virus de la Enfermedad de Newcastle, Bronquitis Infec-

ciosa, Viruela, Laringotraqueitis Infecciosa, Haemophilus spp, Pasteurella spp (19,23,30,31,44,48,62,87) y Escherichia coli afecta sacos aéreos después del establecimiento de Mycoplasma gallisepticum en dicha zona (3).

La condición general de Sinovitis Infecciosa (SI), puede ser causada por diferentes microorganismos como son: Mycoplasma synoviae, Mycoplasma gallisepticum, Virus Artrítico, Pasteurella spp, Escherichia coli, Staphylococcus spp, Streptococcus spp, Corynebacterium spp y Salmonella spp (30,70,87).

Se han hecho estudios reportando algunos aspectos para diferenciar Mycoplasma gallisepticum de Virus Artrítico en base a conteo celular y niveles de hemoglobina (70). Y los resultados de un estudio experimental radiológico al inocular Mycoplasma synoviae, Mycoplasma gallisepticum y Virus Artrítico, proveen la suficiente información para la diferenciación de estos tres agentes y es la siguiente: Mycoplasma synoviae produce osteoartritis degenerativa; Mycoplasma gallisepticum produce lesiones no significativas; Virus Artrítico produce una osteólisis, todo esto observándose en articulaciones inoculadas (53)

Por lo tanto un diagnóstico diferencial certero en base a cuadro clínico es difícil, requiriéndose el aislamiento e identificación del o los microorganismos implicados en el proceso infeccioso respiratorio o articular, así como valorar la presencia de anticuerpos separados de los microorganismos o como partes de una infección mixta (87).

11) Tratamiento

Se ha encontrado toda una gama de medicamentos y antibióticos útiles en el tratamiento de aves enfermas clínicamente, pero no eliminan las infecciones en aves y huevos que son incubados. Dentro de los más comunes están: Estreptomina, linc-

micina, espiramicina, eritromicina, gentamicina, tetraciclina, y tilosina. Administrados ya sea en agua de bebida, alimento o parenteralmente (30,46).

Tilosina se ha usado más en el tratamiento de estas 2 enfermedades, y su evaluación en prevenir la transmisión por huevo de Mycoplasma gallisepticum y Mycoplasma synoviae, concluyen que reduce la infección, pero no eliminan completamente a la infección del huevo (84). Otros estudios demostraron que Tilosina administrada en el agua de bebida a razón de 5 grs/4 Lts., durante 5 a 11 días o subcutáneamente a un rango de 12.5 mg/Libra, o 25 mg/Kg de peso, puede ser altamente efectivo en implementar la ganancia de peso y prevenir o reducir la incidencia de signos clínicos, reacciones de aglutinación, lesiones patológicas y reaislamiento de ambos micoplasmas en cultivo (50).

El uso de Tiamulín (antibiótico semisintético derivado del pleuromutilin del grupo de los diterpenos), al ser administrado subcutáneamente al 0.0125% durante 4 días ha demostrado ser más eficaz que los niveles recomendados para clortetraciclinas, eritromicina y tilosina. Y también es efectivo en una sola dosis de 25 mg/Kg , teniendo un buen efecto marcado sobre las lesiones principalmente en aerosaculítis. En agua de bebida se recomienda administrarla en 0.008% (11).

m) Control

Las medidas de control y erradicación de Mycoplasma gallisepticum y Mycoplasma synoviae, se enfocan principalmente a la prevención y a la obtención de parvadas libres de ambas infecciones. Dentro de estas medidas tenemos las siguientes:

1) Buen Manejo Zootécnico

Para proporcionar un confort adecuado a las aves y así evitar los factores de estres (figura 1), que inciden en ma

yor o menor porcentaje sobre mecanismos compensadores del organismo, ocasionando debilitamiento y exposición a infecciones mixtas, se recomienda hacer un buen manejo de las parvadas. Dentro de las prácticas de manejo tenemos las siguientes:

a) Toda explotación aviar será de una misma edad o si es explotación escalonada debe haber excelentes medidas sanitarias.

b) Limpieza y desinfección de la caseta, cambiar cama, lavar por dentro de la caseta y también implementos avícolas con agua y jabon y secarlos al sol, desinfección de depósitos de agua y de alimento, todo esto se hace al finalizar el período de engorda de las aves.

c) Antes de la llegada de los pollitos, checar que todos los implementos trabajen bien como son: Criadoras, bebederos, rodetes, que haya buena temperatura, buena temperatura, cama suficiente, no haya humedad.

d) Implantación de un buen programa de desparasitación y bacteriológico, con especial enfoque al control de coccidias y Escherichia coli, dentro de los primeros días a 15 días de edad de las aves.

e) Las vacunaciones se deben realizar en la forma - menos estresante.

f) Evitar hacinamientos, los comederos y bebederos deben ser suficientes.

g) Checar rutinariamente temperatura, ventilación , humedad, alimento, el buen estado de las instalaciones e implementos avícolas.

Nota: Todas estas actividades deben estar contempladas en un Abaco Zootécnico.

2) Inmunización

Con respecto a Mycoplasma gallisepticum, se han realizados varios experimentos para evaluar la respuesta inmunogénica del organismo hacia varios productos a base de microorganismos vivos, muertos o inactivados en diferentes fases en aceite y agua, junto con adyuvantes (3,6,68).

En la mayoría de los casos se ha utilizado organismos vivos inoculados por la vía nasal presentando una significativa inmunidad, pero esto es riesgoso cuando se asocia una infección viral. El uso de microorganismos muertos no proporciona una inmunidad confiable y además es cara (3). La preparación de vacunas con micoplasmas inactivados en una emulsión de fase acuosa y aceite con baja viscosidad, se muestran estables por más de 12 semanas a 37°C e inducen una marcada respuesta primaria de anticuerpos en pollos (68).

Para determinar si la Coriza Mixta puede ser prevenida o su severidad ser disminuida, se investigó el uso de bacterinas contra Mycoplasma gallisepticum y Haemophilus paragallinarum proporcionando una protección del 70% y la aerosaculítis fue significativamente reducida (62).

En sí la vacunación es de un valor limitado porque la protección que pudiera ser estimulada por el organismo es rápidamente vencida por la infección subsecuente de virus de la enfermedad de Newcastle, o Bronquitis Infecciosa (30). Además de que es muy difícil preparar emulsiones estables de agua en aceite con baja viscosidad (68). Por lo tanto el control de esta enfermedad en la actualidad radica en la eliminación de aves reproductoras positivas (3,25).

Con respecto al control de Mycoplasma synoviae por vacunación, no ha sido indicado en la literatura (70).

3) Utilización de Antibióticos

En forma profiláctica la difusión horizontal en el pollo de engorda se puede evitar al administrar Tilosina a razón de 2 grs. por 3.785 lts. en agua de bebida, durante los 3 primeros días de edad o 400 grs. por tonelada de alimento durante los 5 primeros días de edad y recomendándose vacunar con virus de Newcastle a las 3 semanas de edad, observándose la reducción de la infección activa en pollos (55). Otro estudio recomienda dar Tilosina a razón de 5 grs./ 3.785 lts. o por vía subcutánea 12.5 mg/ Libra de peso (50).

La transmisión de ambos micoplasmas por el huevo, puede ser reducida mediante repetidas inyecciones en aves reproductoras de Tilosina en aceite, además del uso de Clortetraciclina en el alimento, pero se requiere de más reportes para evaluar estos procedimientos (87).

El baño de antibióticos a los huevos, es para introducir antibiótico en el huevo por medio de una presión diferente entre el huevo y la solución que contiene al antibiótico apropiado en la que se sumerge. En general los reportes han indicado que los procedimientos de sumergir han reducido, pero no eliminado la posibilidad de la transmisión por huevo (30). En consecuencia hay siempre la posibilidad de desarrollar resistencia de los microorganismos al antibiótico y que se produzcan brotes de la enfermedad en un lapso largo de tiempo (3). El uso de aparatos ultrasónicos para introducir antibiótico al huevo, aún no es satisfactorio (7).

4) Tratamiento por Calor

Los huevos antes de incubarse reciben un tratamiento con calor a temperatura de 45 a 46°C durante un período de 11 a 14 horas y después por el mismo tiempo se baja la temperatura -

hasta la de incubación. Es bastante efectivo para reducir la infección, pero provoca una alta mortalidad (86):

5) Hatos Libres de la Enfermedad

Para establecer un hato libre de patógenos específicos (SPF) se recomienda hacer lo siguiente (47) :

a) Realizar estudios serológicos de los hatos reproductores durante 13 meses, para detectar aglutininas contra Mycoplasma gallisepticum o Mycoplasma synoviae, usando la prueba de Aglutinación Rápida en Placa y confirmada con la prueba de Inhibición de la Hemoaglutinación y de los que permanescan negativos son colocados en otra sección donde estarán estrictamente aislados.

b) A estas aves aisladas a los 4 meses después se deben muestrear otra vez y hacer análisis bacteriológicos para - Mycoplasma gallisepticum, Mycoplasma synoviae, Escherichia coli, y Salmonella spp. Y muestrear sangre para realizar pruebas serológicas para los mismos microorganismos mencionados. Todo esto - durante la producción y se debe hacer mínimo 3 veces.

c) Los huevos colectados durante el período de producción son colocados en incubadoras, la progenie es muestreada por procedimientos serológicos y análisis bacteriológicos.

d) Las aves que resulten negativas son llevadas a un local especial, aislado y son considerados aves SPF, y serán muestreados a los 3 meses y 36 meses de edad, para realizar pruebas serológicas y análisis bacteriológicos.

NOTA: Tanto en los primeros estudios para seleccionar hatos libres de la infección, así como en la selección de la progenie para ser reproductores no se les debiera administrar antibióticos.

IV) O B J E T I V O

Las afecciones respiratorias en pollo de engorda - presentan una gran dificultad para poder realizar el aislamiento de micoplasmas involucrados en estos procesos infecciosos, ya - que estos microorganismos necesitan de factores de estres que bajen las defensas del organismo y de factores biológicos que los exacerben para poder manifestar su patogenicidad en el organismo y conforme avanza el proceso respiratorio, su presencia y acción de los micoplasmas es enmascarada por la acción de microorganismos de asociación.

También el aislamiento se dificulta por la falta de un laboratorio de referencia equipado y a los problemas técnicos que se presentan en relación al mal manejo y proceso de la muestra, grado de afección de las mismas, a la disponibilidad y eficiencia de medios de cultivo y posiblemente a la administración indiscriminada de antibiótico de que son objeto estas - aves.

Estas observaciones fundamentaron, que el objetivo de esta investigación fuera el aislamiento de micoplasmas a partir de pollos de engorda con afecciones respiratorias, que proceden de granjas que expenden al público y en donde ya no se les da tratamiento con antibióticos.

V) MATERIAL Y METODOS

1) MATERIAL

a) Colección de Muestras

El estudio se realizó de Enero a Marzo de 1983, en una granja periférica a la ciudad de México, la cual funciona como depósito de parvadas de pollos de engorda. Las aves tenían aproximadamente nueve semanas y media de edad, presentando signos de afecciones respiratorias en su mayoría.

La procedencia de las parvadas afectadas y que se venden en esta granja de depósito, fué de una granja de Teoloyucan México, pero también reciben de Queretaro, Jilotepec, Tepeji del Río y de granjas vecinas.

Debido a que no quisieron proporcionar las muestras aún sabiendo el propósito, se tuvieron que comprar las aves a razón de \$ 100.00 (cien pesos) por ave.

Del primer lote de la parvada observada se compraron 10 aves, sugestivas de poder realizarles el aislamiento de micoplasmas. Y en un segundo lote de la primera parvada observada se compraron 10 aves más.

Se llevaron las muestras vivas al laboratorio, en donde fueron sacrificadas por desnucamiento, observandose a la necropsia diferentes presentaciones de lesiones en sacos aéreos, las cuales se clasificaron de la siguiente manera: Los sacos aéreos que tenían abundante exudado y se observaron engrosados, se relacionaron con (+++), con leve exudado y vascularización, se relaciono con (++), y sin cambios patológicos aparentes (SCPA), se relaciono como (-).

Todas las muestras de sacos aéreos desde su toma y procesamiento, se trabajaron en campo estéril e inmediatamente se procedió a sembrarlas en medio de cultivo.

b) Aislamiento

Se empleo el medio de Eaton modificado por Jaramillo y Márquez. Cuya fórmula se describe a continuación:

°	PPLO Caldo (Difco)	5	gr.
°°	BHI Caldo (Difco)	5	gr.
	Cisteína ·HCl	.1	gr.
	DNA	.02	gr.
	Rojo de Fenol	8	ml.
	Agua Destilada	620	ml.
+	NAD ·H (Merck)	.1	gr.
+	Extracto de Levadura Estéril (pH 7.6)	100	ml.
+	Suero Fresco de Equino Estéril e Inactivado a 57°C, durante 30 min.	200	ml.
+	Medio Basal de Eagle Concentrado 10 X	60	ml.
+	Glucosa al 100%	10	ml.
+	Penicilina	500.000UI.	

+ El extracto de levadura, suero equino, medio basal de Eagle, NAD·H, glucosa y penicilina fueron adicionados en forma aséptica al medio base, después de su esterilización en autoclave a 121°C, 15 lb, 15 min.

Posteriormente el medio de Eaton se ajusto con NaOH .1 N a un pH de 7.8

Medios Basales:° PPLO broth w/o CV (Difco Lab.N 0554-01)
°° Brain Heart Infusion (Difco Lab. N 0037-02)

Los medios preparados se distribuyeron en tubos estériles de Leighton con tapón de baquelita conteniendo 4 ml cada tubo.

Para la preparación de medio sólido se utilizó la misma base de medio líquido mencionado, adicionando agar noble a una concentración de 10 gr para un litro de medio.

c) Caracterización Bioquímica

Se emplearon las siguientes pruebas bioquímicas bacteriológicas:

1) Hidrólisis de la Arginina

El medio empleado fue el siguiente:

PPIO Caldo	10.5 gr.
L - Arginina 'H	5. gr.
Rojo de Fenol	6.25 ml.
Agua Destilada	250. ml.

Se ajusto el pH a 7.0 con NaOH 1 N y se esterilizó por filtración (membrana Millepore .22 micras) y se agregó asépticamente los siguientes compuestos estériles:

Suero Equino	100. ml.
Extracto de Levadura	50. ml.
Penicilina G	250.000UI.

2) Fermentación de Carbohidratos

Se utilizó como base el medio de Eaton y solamente se adicioneo el carbohidrato en estudio como: Glucosa, Fructuosa, Sorbitol, Xilosa y Galactosa, a razón de 1 gr. por 1000 ml. de medio líquido. Se ajusto el pH a 7.0 y posteriormente se agregó en forma aséptica los componentes estériles siguientes:

Suero de Equino	200.	ml.
Extracto de Levadura	100.	ml.
Penicilina	500.000	ml.

El medio fue distribuido en tubos de 13x100 con tapón de baquelita, conteniendo 4 ml cada tubo y se almacenaron a 4°C .

3) Dependencia de Esteroles

Se prepararon las soluciones de polianeto sulfanato de sodio (Liquoid Roche) al 5% y Digitonina. Se esterilizaron por filtración. Una gota de Liquoid o Digitonina se colocó sobre discos de papel filtro estériles, secándose a 37°C y se almacenaron a 4°C.

4) Producción de Peróxido de Hidrógeno

Se preparó una solución de azul de metileno para la prueba de producción de peróxido de hidrógeno al .1% en agua destilada, se esterilizó en la autoclave y se almacenó a 4°C.

2) METODOS

a) Preparación de las Muestras

Las aves fueron sacrificadas por desnucamiento e inmediatamente se procedio a realizar la necropsia en un campo estéril, tomando como muestra a los sacos aéreos torácicos. Colocando inmediatamente a estos tejidos por separado en cajas de petri estériles y numeradas. Después en un campo estéril se procedio a macerar a los tejidos por separado en un mortero de porcelana estéril y añadiendo 3 ml de Solución Buffer Fosfatada (PBS) estéril. El macerado se coloco en un tubo de centrífuga estéril y se centrífugo a 2500 rpm/15 min. Del sobrenadante contenido en el tubo de centrífuga, se tomó un mililitro con una pipeta - pasteur estéril para realizar el aislamiento.

b) Aislamiento

Procedimiento técnico en secuencia:

Al terminar un paso y observar sus resultados, se debe seguir la secuencia correspondiente.....

- | | | |
|----|---|---|
| 1) | En un campo estéril, se toma 1 ml del sobrenadante contenido en los tubos de centrífuga con una pipeta pasteur estéril. <u>Seguir la secuencia</u> | 2 |
| 2) | Cultivar en medio líquido de Eaton mediante el método de dilución logarítmica 10^{-4} de la muestra original e incubar a 37°C , en posición semihorizontal durante 3 a 7 días y examinar diariamente..... | 3 |
| | <u>Observaciones:</u> | |
| | No contaminados..... | 3 |
| | Contaminados, filtrarlos .45 micras..... | 3 |

- 3) Se realizan subcultivos en medio de Eaton líquido y sólido. Se observan diariamente, durante los primeros 3 a 4 días y después a los 7 días. El medio sólido se incuba en una atmósfera microaerofílica (5% de CO₂) y se examina en un campo estéril con microscopio esteroscópico, utilizando luz indirecta.
- Observaciones:
 Contaminados se filtran(.45micras).....3
 Crecimiento después de 7 días4
 Crecimiento en medio líquido5
 Crecimiento en medio sólido4y6
- 4) Se realizaron subcultivos en medios de Eaton líquido. Se observan diariamente durante los primeros 3 a 4 días y después a los 7 días.
- Observaciones:
 Crecimiento en medio sólido a los 3 a 4 días.7
 No crecimiento en el medio.5
Desechar las cajas del medio sólido en las que no hubo crecimiento.
- 5) Se realizan subcultivos en los medios de Eaton líquido y sólido, repitiéndose a intervalos de 2 días con el objeto de obtener el aislamiento.
- Observaciones:
 Crecimiento en medio sólido4y6
- 6) Se separan los diferentes tipos - de colonias (CLONACION).7y8
- 7) Se congelan en medio líquido a -70°C.
- 8) Realizar pruebas bioquímicas y serológicas.
- +++ En medio líquido cualquier cambio en el pH, indicado por el rojo de fenol se considera como crecimiento positivo.

c) Tinción de Colonias de Micoplasmas.

Las colonias características de "huevo estrellado" se observaron con el microscópio esteroscópico (en 25X) y fueron teñidas con el método de Dienes. Esta tinción se realizó con el objeto de hacer manifiesto a las colonias de micoplasmas y de eliminar los artefactos de laboratorio y formas "L" de bacterias.

d) Caracterización Bioquímica.

1) Hidrólisis de la Arginina:

Los micoplasmas aislados se siembran en el medio de arginina líquida y se incuban a 37°C, durante 3 a 4 días. Un cambio del medio a color púrpura (reacción alcalina) se da como positiva a la hidrólisis.

2) Fermentación de Carbohidratos:

Los micoplasmas se siembran en el medio líquido de Eaton, con el carbohidrato a estudiar y se incuban a 37°C, durante 3 a 4 días. Un cambio del medio a color amarillo indica una reacción positiva.

3) Dependencia de Esteroles.

Los micoplasmas se siembran en medio sólido de Eaton e inmediatamente se coloca sobre la superficie un sensidisco impregnado con digitonina o liquoid y se incuban de 3 a 4 días a 37°C. Una zona de inhibición de crecimiento, indica dependencia.

4) Producción de Peróxido de Hidrógeno

Se sembraron los micoplasmas en medio sólido de Eaton y se incubaron a 37°C, durante 3 a 4 días. Se cortaron trozos de agar con colonias de micoplasmas y se colocaron sobre los portaobjetos. Por otro lado se utilizaron eritrocitos (Tipo 0), lavados tres veces con solución salina tamponada, después se ajustaron a 0.5%. Estos eritrocitos se mezclaron con un volumen igual de azul de metileno diluido 1/10 con solución salina

tamponada. De esta mezcla se agregaron dos gotas sobre el agar con colonias y al cabo de varios minutos se observaron al microscópio. Una reacción positiva se manifiesta al teñirse los eritrocitos que rodean a las colonias de micoplasmas.

VI) R E S U L T A D O S

Las aves tomadas de la granja de depósito mostraban en forma general el siguiente cuadro clínico: Aspecto demacrado, postración, retardo en el crecimiento, baja de peso, plumas erizadas, conjuntivitis con exudado espumoso, coriza, descarga nasal, postración con el pico semi-abierto, accesos de estornudos, estertores y asfixia.

a) Lesiones Macroscópicas

Principalmente el estudio se enfocó a la observación de lesiones producidas en sacos aéreos, pero a la vez se hizo una evaluación de la relación del grado de afección de sacos aéreos y de los demás órganos de la misma ave en estudio. Y en forma general los hallazgos a la necropsia que se reportaron de las muestras fueron las siguientes:

1) Aves con sacos aéreos vascularizados y con leve exudado espumoso (tipo de lesión clasificada como: ++), se relacionaba con tráquea vascularizada, conteniéndolo exudado espumoso y en los demás órganos parenquimatosos se apreciaban pocas lesiones.

2) Aves con sacos aéreos conteniendo exudado que variaba de amarillo caseoso a café (tipo de lesión clasificada como: +++), se relacionaban con tráquea vascularizada conteniendo exudado espumoso y caseoso amarillento, los pulmones se observaron con zonas de hepatización y al corte salía exudado caseoso amarillento, había hidropericardio con deformación del corazón y también se apreciaba exudado espumoso y fibrinoso alrededor de las vísceras, en intestino se observó una gran vascularización con contenido diarreico. Las muestras de aves y su grado de afección de sacos aéreos se observan en el cuadro X .

LESIONES EN SACOS AEREOS Y AISLAMIENTOS EFECTUADOS. CUADRO X

<u>AVES</u>	<u>LESIONES EN SACOS</u>	<u>AISLAMIENTO</u>
	<u>AEREO TORAXICOS</u>	
1	+ +	+
2	+++	-
3	+++	-
4	+ +	+
5	+ +	+
6	+ +	+
7	+ +	+
8	+ +	+
9	+++	-
10	+++	-
11	+++	-
12	+ +	+
13	+ +	+
14	+++	-
15	+ +	+
16	+++	-
17	+ +	+
18	+ +	+
19	+++	-
20	+ +	+

++ = Sacos aéreos vascularizados y con leve exudado espumoso.

+++ = Sacos aéreos conteniendo exudado que variaba de amarillo caseoso a café.

Del brote natural se lograron aislar 12 micoplasmas de aves que mostraban la lesión tipo (++) en sacos aéreos. SML 1984.

b) Procedimiento Bacteriológico
de los Sacos Aéreos.

1) Aislamiento de Micoplasmas.

Se efectuaron un total de 12 aislamientos a partir - de Sacos Aéreos Torácicos, a los cuales se les denominó en con - junto: Aislamientos de Mycoplasmas L- 514.

2) Tinción Colonial

Al hacer la tinción de Dienes a las colonias, para - diferenciarlas de formas "L" de bacterias y de artefactos de la - laboratorio. Se observó en todos los aislamientos L-514, una colo - ración más intensa en el centro y alrededor presentaba una deli - mitación circular teñida tenuemente, lo que conformaba en sí la característica colonia en forma de "huevo estrellado".

3) Dependencia de Esteroles

Se procedió a realizar la prueba de Dependencia de esteroles , resultando lo siguiente: Los 12 aislamientos L-514 fueron sensibles a la digitonina, ya que se observó una zona de inhibición de crecimiento alrededor del sensidisco, por lo - cual se interpretan los resultados como dependencia de esteroles. Por lo tanto estos aislamientos son considerados pertenecientes al género Mycoplasma. Observar cuadro XI.

4) Pruebas Bioquímicas

A los 12 aislamientos se les hizo la prueba de Aprovechamiento de Carbohidratos, Arginina, y la Producción de Peróxido de Hidrógeno. Y los resultados se observan en el cuadro XI.

Los 12 aislamientos L-514, aprovechan los carbohidra - tos, pero no a la arginina y todos producen peróxido de hidróge - no.

5) Caracterización Serológica

Debido a la falta de antisueros de referencia para micoplasmas de tipo aviar, no se pudo llevar a cabo la identificación serológica, mediante la prueba de Inmunofluorescencia Indirecta y Epifluorescencia.

Resultados de las Pruebas Bioquímicas, Producción de Peróxido de Hidrógeno, Dependencia de Esteroles. Pertenecientes a los 12 aislamientos de Mycoplasmas L-514.

<u>Pruebas Bioquímicas:</u>	<u>A</u>	<u>I</u>	<u>S</u>	<u>L</u>	<u>A</u>	<u>M</u>	<u>I</u>	<u>E</u>	<u>N</u>	<u>T</u>	<u>O</u>	<u>S</u>
	<u>1</u>	<u>2</u>	<u>3</u>	<u>4</u>	<u>5</u>	<u>6</u>	<u>7</u>	<u>8</u>	<u>9</u>	<u>10</u>	<u>11</u>	<u>12</u>
<u>Hidrólisis de</u>												
<u>Arginina:</u>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<u>Fermentación de:</u>												
<u>Glucosa</u>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<u>Galactosa</u>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<u>Sorbitol</u>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<u>Fructuosa</u>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<u>Xilosa</u>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<u>Dependencia de Esteroles:</u>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<u>Producción de Peróxido de Hidrógeno:</u>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

VII) D I S C U S I O N

El aislamiento de micoplasmas involucrados en afecciones respiratorias en pollos de engorda, dependera de los siguientes factores: a) Fase en que se encuentre la enfermedad, b) Aplicación de antibióticos durante su desarrollo de las parvadas, c) Grado de afección de los tejidos tomados como muestras para efectuar los aislamientos.

Las lesiones observadas en sacos aéreos a la necropsia, es un buen dato que nos indica el grado de afección en estos tejidos y establece el éxito en los aislamientos (esto es sin considerar la variable del factor antibiótico).

Como se observa en el cuadro X, en los sacos aéreos vascularizados y con leve exudado espumoso (Lesión tipo ++), si se pudo aislar 12 micoplasmas (un aislamiento por ave), equivalente al 60% del total de 20 aves.

En los sacos aéreos que contenían exudado que variaba de amarillo caseoso a café (Lesión clasificada como +++) y que se relacionaba con una fase avanzada de lesiones en todos los órganos de los pollos de engorda, resultó negativo el aislamiento de micoplasmas.

Los sacos aéreos sin cambio patológico aparente(SCPA) (están clasificados como: -), no se observaron a la necropsia de las 20 aves.

También hay que tomar en cuenta la fase en que se encuentren las infecciones intercurrentes (Cuadro IX), en el cual pueden entrar bacterias oportunistas como Escherichia coli, que al desarrollarse e invadir a los sacos aéreos previamente sensibilizados por micoplasmas (3), enmascaran o inhiben el desarro -

llo de micoplasmas, por lo cual dificultan o impiden su aislamiento.

Los 12 micoplasmas obtenidos corroboran que el éxito de sus aislamientos, dependió de la fase en que se encuentre la infección, que va relacionada con el grado de afección observada en los tejidos que se toman como muestras para realizar el aislamiento.

Ahora bien el factor antibiótico no se puede discutir, en cuanto a si afectó en los aislamientos negativos en este estudio, ya que no se obtuvieron datos del manejo de la granja de la cual provenían.

Estudios previos realizados por el autor indican que los decomisos obtenidos de firmas comerciales, en donde se observaron lesiones características y sugestivas en el pollo de engorda de poder efectuar aislamientos de micoplasmas, los resultados fueron negativos .

Se seleccionaron como muestras para realizar el aislamiento de micoplasmas a los sacos aéreos, debido a que no hay reportes que indiquen el aislamiento de micoplasmas a partir de sacos aéreos provenientes de pollos sanos. Esto se corrobora con el siguiente dato, los micoplasmas al ser exacerbados se desarrollan e invaden a los sacos aéreos de manera progresiva y dañándolos en forma grave, ya que estos carecen de mecanismos de defensa (3).

Los aislamientos de micoplasmas fueron obtenidos de un brote natural en el cual toda la parvada tenía signos respiratorios, que iban de leves (simple moqueo) a graves (asfixia y nostración)

Se les hizo caracterización bioquímica con los resultados siguientes: Los aislamientos que fueron 12 en total, se

les denominó en conjunto Aislamientos L - 514, y todos fermentan glucosa, galactosa, sorbitol, fructuosa y xilosa . Tienen dependencia de esteroides, . Y producen peróxido de hidrógeno. CuadroXI

Buscando datos de las referencias de estudios realizados en cuanto a identificación bioquímica (9 y 88), se observa que al depender los 12 aislamientos L-514 de esteroides para desarrollo, pertenecen al género Mycoplasma. Y al no hidrolizar a la Arginina, se da por descartado que fueran aislamientos relacionados a Mycoplasma gallinarum (especie apatógena).

Como se sabe hay gran cantidad de serotipos aviares, por lo cual NO ES SUFICIENTE este estudio bioquímico para la identificación de la especie. PERO al NO TENER ANTISUEROS DE REFERENCIA de micoplasmas de tipo aviar, SI PODEMOS ESTABLECER que en base a los resultados obtenidos (Cuadro XI), se aislaron cepas de Mycoplasma spp, a partir de sacos aéreos de pollos de engorda con afecciones respiratorias, que tentativamente pueden ser relacionados a serotipos patógenos como son : Serotipo A, al que corresponde Mycoplasma gallisepticum, o al Serotipo S, al que corresponde Mycoplasma synoviae.

Por lo tanto a los aislamientos L -514 se les tienen que realizar Pruebas Serológicas como Inmunofluorescencia Indirecta y Epifluorescencia con antisueros de referencia, para poder establecer a que serotipo pertenecen.

Los 12 aislamientos L-514 se congelaron a -70°C .

VIII) C O N C L U S I O N E S

- 1) En si bajo todos los factores adversos se pudo aislar micoplasmas, a partir de sacos aéreos de pollos de engorda que presentaban problemas respiratorios y a la necropsia presentaban varios grados de lesiones en sacos aéreos.
- 2) Los 12 aislamientos de micoplasmas L- 514, se efectuaron en aves con lesiones leves en sacos aéreos, ya que en sacos aéreos - con lesiones graves es difícil.
- 3) La identificación bioquímica no es suficiente para establecer a que especie corresponden los 12 aislamientos de micoplasmas L-514, requiriendose la identificación serológica, pero por carecer de antisueros específicos de referencia no es posible.
- 4) Queda habierta la invitación a M.V.Z. de - proseguir investigaciones con los aislamientos realizados.

IX) Lista de Cuadros, Tablas y Figuras.

Pruebas Serológicas Empleadas Para La
Identificación de Micoplasmas

Prueba de Aglutinación Rápida en Placa
Prueba de Aglutinación en Tubo
Prueba de Inhibición de la Hemoaglutinación
Prueba de Fijación del Complemento Directa
Prueba de Gel-Difusión
Prueba de Inhibición del Crecimiento
Prueba de Inhibición Metabólica
Prueba de Poliacrilamida Gel Electroforésis
Prueba de Microtitulación de Fijación de Complemento
Prueba de Inmunofluorescencia
Prueba de Epifluorescencia

(3,4,8,28,43,59,61,64,65,87,88).

Causas de Reacciones No Específicas en la Prueba de Aglutinación Rápida en Placa

VIRUS	BACTERIAS	HOSPEDADOR	MANEJO	
<u>Mycoplasma micoides sub. mycoides</u> :	Vaccinea	Diplococo I y II <u>Actinobacillus lignieresii.</u> <u>Escherichia coli</u> <u>Staphylococcus aureus.</u> <u>Streptococcus faecalis.</u> Aeromonas Corynebacterium spp.	Membranas de células pulmonares. Antigalactán.	Aplicación de diferentes inmunógenos. Vacunación con virus inactivado . Presencia de suero porcino en el antígeno. Contaminación del suero. Antisuero obtenido de otra especie diferente del Conejo.
<u>Mycoplasma gallisepticum</u>	Newcastle . Bronquitis Infecciosa. Encefalomielitís aviar. Cólera aviar.	Reacción cruzada entre ambos en concentraciones iguales de microorganismos en el animal.	Aplicación de inmunógenos que estimulan la producción de antigammaglobulinas , reaccionan con las globulinas del suero. Almacenamiento prolongado del suero . Bacterinas de <u>Erysipelothrix incidiosa</u> , Staphylococcus, Streptococcus.	
<u>Mycoplasma synoviae</u>		Factor artrítico Reumatoide		

Cuadro III

Diferencias de los Micoplasmas en Relación
a Formas "L" de Bacterias

MicoplasmasFormas "L"

- | | |
|--|---|
| Se encuentran en la naturaleza. | . Se producen en el laboratorio, ocurriendo espontáneamente como resultado de la acción en la bacteria de antisueros, antibióticos, sales de metales pesados, fagos. |
| Requieren de esteroides para su crecimiento (a excepción de Acholeplasma). | . No requieren de esteroides. |
| No reconvierten a Bacterias | . Pueden revertir a bacterias. |
| No relacionadas a bacterias genéticamente. | . Si están relacionadas. |
| El porcentaje de G+C en DNA es bajo. | . Es alto. |
| Usualmente patógenos o apatógenos. | . Es dudoso que produzcan cambios tisulares que den como resultado enfermedad. Sin embargo pueden ser importantes como mecanismos de la persistencia de los microorganismos en los tejidos y explicar la recurrencia de una infección, una vez que se ha terminado el tratamiento antimicrobiano. |

Cuadro IVMicoplasmas Patógenos en Aves de Producción.

<u>M I C O P L A S M A</u>	<u>: H O S P E D A D O R</u>	<u>: E N F E R M E D A D</u>
	Aves silvestres Pollos de engorda Postura	Enfermedad Crónica Respiratoria
<u>Mycoplasma gallisepticum</u>	Pavos	Sinusitis Infecciosa Aerosaculítis
	Aves silvestres Pollo de Engorda Postura	Sinovitis Infecciosa Aerosaculitis
<u>Mycoplasma synoviae</u>	Pavos	Sinovitis Infecciosa
	Pavos	Aerosaculitis
<u>Mycoplasma meleagridis</u>	Pavos	Aerosaculitis

. MARLOPS (1984).

Micoplasmas y Acholeplasmas sin Importancia
Etiológica

Mycoplasma gallinarum

Mycoplasma iners

Mycoplasma Wr

Serotipos I (F, CyD, M L).

Acholeplasma laidlawii

Acholeplasma axantum

Cuadro VIAislamientos agrupados de acuerdo al estudio realizado con la Técnica de Fijación de Complemento.

-
-
- 1) Serotipo A correspondiente a Mycoplasma gallisepticum
 - 2) Serotipos B y M corresponden a Mycoplasma gallinarum
Serotipos E y G corresponden a Mycoplasma iners
NOTA: Ambos relacionados antigénicamente en este estudio.
 - 3) Serotipos C,O,P,D. Relacionados antigénicamente.
 - 4) Serotipo F
 - 5) Serotipo H que corresponde a Mycoplasma meleagridis
 - 6) Serotipos I,J,K,N,Q,R. Relacionados antigénicamente
 - 7) Serotipo L
 - 8) Serotipo S que corresponde a Mycoplasma synoviae
-
-

Cuadro VII

Aislamientos agrupados de acuerdo al estudio realizado
con la Técnica de Inhibición del Metabolismo.

- =====
- 1) Serotipo A que corresponde a Mycoplasma gallisepticum
 - 2) Serotipo B que corresponde a Mycoplasma gallinarum, y también se colocó en este grupo a Mycoplasma anatis, porque ambos presentaron relación antigénica en este estudio.
 - 3) Serotipos C, O., se encontraron relacionados.
 - 4) Serotipos D, P., relacionados antigénicamente.
 - 5) Serotipo E que corresponde a Mycoplasma iners.
 - 6) Serotipo F
 - 7) Serotipo L
 - 8) Serotipos I, J, K, N, Q, R., relacionados antigénicamente.
 - 9) Serotipo H que corresponde a Mycoplasma meleagridis.
 - 10) Serotipo S que corresponde a Mycoplasma synoviae.
- =====

Cuadro VIII

Aislamientos agrupados de acuerdo al estudio realizado
con la Técnica de: Inhibición del Crecimiento e
Inmunodifusión.

Immunodifusión	e Inhibición del Crecimiento
Serotipos:	Serotipos:
1) A	1) A
2) B,M.	2) B,M.
3) C,D,O,P.	3) C
4) E,G.	4) D
5) F	5) E,G.
6) H	6) F
7) I,J,K,N,Q,R.	7) H
8) L	8) I,J,K,N,Q,R.
9) S	9) L
	10) O,P.
	11) S

Factores Predisponentes y Secuencia
de Infecciones Intercurrentes en la
Enfermedad Crónica Respiratoria

Cuadro IX

<u>Factores Predisponentes:</u>	<u>F A C T O R E S I N F E C C I O S O S</u>		
<u>Factores Estresantes</u>	<u>Primera Etapa</u>	<u>Segunda Etapa</u>	<u>Tercera Etapa</u>
Estres Ambiental . Humedad Alta Temperatura Baja y Alta Mal Manejo en : Vacunaciones, Desparasitación, Ventilación, Nutrición . Casetas mal situadas. Hacinamiento de las aves Instalaciones e Implemen tos avícolas deficientes.	Virus de Newcastle y Bronquitis Infecciosa ya sea por brote leve o por reacción postva cunal. Destruyen célu las y crean un medio propicio para que se exacerbe.....	<u>Mycoplasma gallisepticum</u> se exagera y se difunde a sacos aéreos y después que sensibilizó esta zo na, la deja propicia pa ra que la invada otra - bacteria.....	<u>Escherichia coli</u> , se es tablece en sacos aéreos y todo el organismo a- fectado parece que su- frío una septicémia.

Marlops (1984).

=====

Principales Características Diferenciales de
los Serotipos de Micoplasmas aviare .

=====

Tabla I

Procedimientos de caracterización :	<i>M. gallisepticum</i> A	<i>M. gallinarum</i> B	C-O	D-P	<i>M. iowae</i> E	F	<i>M. meleagridis</i> H	I,J,K,N,Q,R	L	<i>M. anatis</i>	<i>M. laidlawii</i> var. <i>insidiosum</i>
Fermentación de Dextrosa	+	-	+	+	-	+	-	+	+	+	+
Reducción de Tetrazolium	+	+	-	-	-	V	-	+	+	+	+
Descarboxilación Arginina	-	+	-	-	+	-	+	+	+	-	-
Película y Manchas	+	+	V	-	+	-	-	-	+	+	-
Reducción de Azul de Metileno.	+	-	-	-	-	-	-	+	+	-	+
Crecimiento a:											
pH 5.5	-	V	-	-	V	-	V	V	V	V	-
pH 9.5	+	+	V	V	V	-	-	+	+	V	+
25 C.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
42 C.	-	V	-	-	V	-	-	+	V	-	V
Crecen sin suero	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+
Resistencia a:											
Sales biliares	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-
Cloruro de sodio	-	V	-	-	+	-	-	+	-	V	+
Azul de Metileno	+	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-
Fermentación de:											
Sacarosa	-	-	+	V	-	-	-	-	-	V	-
Manosa	+	-	V	-	-	-	-	+	-	V	-
Manitol	-	-	-	-	-	-	-	V	-	-	-
Levulosa	+	-	V	-	-	-	-	+	-	+	+
Sorbitol	-	-	-	-	-	-	-	V	-	-	-
Celobiosa	-	-	-	-	-	-	-	V	-	-	V
Salicín	-	-	-	-	-	-	-	V	-	-	-

F A C T O R E S D E E S T R E S

Figura I

Enfriamientos

Casetas mal orientadas
y colocadas en sitios
inadecuados.

Falta de bebederos y
comederos suficientes

Acumulación de Humedad
y Gases.

Mal Manejo Zootécnico
en cuanto a vacunación,
alimentación, desparasitación

Fuero control de plagas (ra
tas).

Higiene deficiente

Hacinamientos

Instalaciones defi-
cientes.

Personal No Apto

Cortinas mal emplea
das.

X) BIBLIOGRAFIA

- 1) Adler, H.E., R. Yamamoto (1957). Pathogenic and nonpathogenic pleuronepneumonia-like organism in infectious sinusitis of the turkeys. *Am. Vet. Research.* 18:655-656.
- 2) Adler, H.E., M. Shifrine, & H. Ortamayer (1961). Mycoplasma inocuum sp. n., a saprophyte from chickens. *J. Bacteriol.* 82:239-240.
- 3) Adler, H.E., Infección por Mycoplasma gallisepticum y Mycoplasma synoviae en pollos. *Técnica Pecuaria - Suplemento Num. 1*.
- 4) Adler, H.E., A. J. DaMasa, and W. W. Sadler (1964). Application of the anti-globulin technique for the detection of Mycoplasma gallisepticum antibodies. *Avian Diseases* 8:576-579.
- 5) Adler, H.E. & A. J. DaMasa (1965). Antigenicity of six isolates of Mycoplasma gallisepticum. *Avian Diseases* 9:205-211.
- 6) Adler, H.E. & J. M. Lamas Da Silva (1970). Immunization against Mycoplasma gallisepticum. *Avian Diseases* 14 : 763-769.
- 7) Alls, A.A., W. J. Benton, W. C. Krauss, and M. S. Cover (1964). Treatment of hatching eggs for disease prevention a - application of ultrasonic energy. *Avian Diseases* 8:538 - 545.
- 8) Aycardi, E. R., D. P. Anderson & R. P. Hanson (1971). Classification of avian mycoplasmas by gel-diffusion and growth-inhibition test. *Avian Diseases* 15:434-447.

- 9) Barber, T.L., J. Fabricant (1971). A suggested reclassification of avian mycoplasma serotypes. *Avian Diseases* 15:125-138.
- 10) Baharsefat, M., and H.E. Adler (1965). Comparison of tube agglutination, hemagglutination - inhibition (HI) and antiglobulin titers on serums of chickens and turkeys infected with Mycoplasma gallisepticum. *Avian Diseases* 9:460-464.
- 11) Baughn, C.O., W.C. Alpaugh, W.H. Linkenheimer, and D.C. Maplasden (1978). Effect of tiamulin in chickens and turkeys infected experimentally with avian mycoplasma. *Avian Diseases*. 22:620-626.
- 12) Beltran J.J., et al (1980). Diagnóstico de la infección de la bolsa de Fabricio: Bursómetro y anticuerpos precipitantes. ANECA.
- 13) Chu, H.P. (1958). Differential diagnosis and control of - respiratory disease of poultry. *Vet. Rec.* 70:1064-1078.
- 14) Gordy, D.R., H.E. Adler (1968). Early lesions in chicken and turkey embryos inoculated with Mycoplasma gallisepticum strain S6 at various stages of incubation. *Avian Diseases*. 12:412-416.
- 15) Dale, J.R. (1964). RESEARCH NOTE: A comparison of serum dilution techniques for the tube hemagglutination-inhibition (HI) test. *Avian Diseases*. 8:462-464.
- 16) Da Massa, A.J., H.E. Adler (1975). Growth of Mycoplasma synoviae in a medium supplemented with nicotinamide - instead of B-Nicotinamide Adenine Dinucleotide. *Avian Diseases*. 19:544-555.

- 17) Delaplane, J.P., & H.O. Stuart (1943). The propagation - of a virus in embrionated chicken eggs causing a chronic respiratory disease of chickens. *Am.Vet.Research* . 4:325-332.
- 18) De Diego, I.A. (1970). Guía para el estudio de las enfermedades de los animales (Aves y Mamíferos). Cap. Micoplasmosis. p 423-428.
- 19) Dunlop, W.R., G. Parker, R.G. Strut and S.C. Smith (1964). The effect of sequence of infection on complex respiratory disease. *Avian Diseases*. 8:321-327.
- 20) Dutta, S.K., R.E. Dierks & B.S. Pomeroy (1965). Electron microscopic studies of the morphology and stages of development of Mycoplasma gallisepticum. *Avian Disease* 9:241-251.
- 21) Edward, D.G. ff., & E.A. Freund (1956). The classification and nomenclature of organism of the pleuropneumonia group. *J.Gen.Microbiol.* 14:197-207.
- 22) Edward, D.G., ff., & A.D. Kanareck (1960). Organism of the pleuropneumonia group of avian: their classification - into species. *Ann New York Acad Sci.* 79:696-702.
- 23) Eichwald., *Micoplasmosis de los animales*. Ed. Acribia.
- 24) Fabricant, J. (1960). Serological studies of avian pleuropneumoniae-like-organism (PPIO) with Edward's technique. *Avian Diseases*. 4:505-514.
- 25) Fabricant., (1980). Algunas consideraciones acerca del control de la infección por Mycoplasma gallisepticum. *Memorias de la VII Convención de la A.N.E.C.A.*
- 26) Fallon, R.J. (1970). Isolation, cultivation and mantence of mycoplasmas. Ruchil, Hospital, Glasgone, Sclotland, and Whittlestone. S.of Vet.University of Cam. England.

- 27) Freund, E.A. (1957), Mycoplasmatales. In breed R.S. Murray, EGD. and Smith, H.R. eds. Bergey' manual of determinative bacteriology. 7th ed. pp 914-926.
- 28) Frey, M.L., and R.P. Hanson (1969). A complement fixation test for the study of avian mycoplasmas. Avian Diseases. 13:185-190.
- 29) Giambrone, J., C.S. Eidson, and S.H. Kleven (1977). Effect of infectious bursal disease on the response of chickens to Mycoplasma synoviae, Newcastle Disease Virus and Infectious Bronchitis Virus. Am. J. Res. 38:251-253.
- 30) Gordon, R.F., Enfermedades de las aves. p44-50. Ed. El Manual Moderno (1980) traducido por Dr. Ariel Ortiz M. F.E.S.C. Medicina Veterinaria y Zootecnia.
- 31) Heishman, J.O., N.O. Olson, and C.J. Cunningham (1969). Transmission of Mycoplasma gallisepticum, Newcastle Disease, Infectious Bronchitis and combinations in a three-phase broiler house. Avian Diseases. 13:1-6.
- 32) Hromatka, L., and H.E. Adler (1969). Effects of pH, physical factors and preservatives on the sensitivity of Mycoplasma gallisepticum slide agglutination antigens. Avian Diseases. 13:452-461.
- 33) Jordan, F.T.W., R.A. Rashid, A.U. Utham (1978). The recovery of mycoplasma from the avian oesophagus. Veterinary Record. 102:403-404.
- 34) Jordan, F.T.W., and M.M. Amin (1980). A survey of mycoplasma infections in domestic poultry. Research in Veterinary Science. 28:96-100.
- 35) Kerr, K.M., and N.O. Olson (1964). Control of infectious synovitis. 14. The effect of age of chickens on the susceptibility to three agents. Avian Diseases. 8:256-263.

- 36) Kerr, K.M., and N.O. Olson (1970). Pathology of chickens inoculated experimentally or contact-infected with Mycoplasma synoviae. Avian Diseases. 14:291-320.
- 37) King, D.D., S.H. Kleven, D.M. Wenger and D.P. Anderson. (1973). Field studies with Mycoplasma synoviae. Avian Diseases. 17:722-726-
- 38) Kleckner, A.L. (1960). Serotypes of avian pleuropneumonia-like-organism in the etiology of turkey sinusitis and chronic respiratory disease of chickens. Poultry Sci. 31:902-904.
- 39) Kleven, S.H., and B.S. Pomeroy (1971). Characterization of the antibody response of turkeys to Mycoplasma meleagridis. Avian Diseases. 15:291-298.
- 40) Kleven, S.H., O.J. Fletcher and R.B. Davis (1975). Influence of strain of Mycoplasma synoviae and route of infection on development of synovitis or airsacculitis in broilers. Avian Diseases. 19:126-135.
- 41) Kleven, S.H., C.S. Eidson and O.J. Fletcher (1978). Airsacculitis induced in broilers with a combination of Mycoplasma gallinarum and respiratory viruses. Avian Diseases. 22:707-716.
- 42) Markham, F.S., and S.C. Wong (1952). Pleuropneumonia-like organism in the etiology of turkey sinusitis and chronic respiratory disease of chickens. Poul. Sci. 31 : 902-904.
- 43) Marquard, W.W., and J.A. Newman (1971). A direct complement-fixation test for detection of mycoplasma antibodies in chicken serum. Avian Diseases 15:139-149.

- 44) Merrill, F.R. Jr., L.C. Grumbles, C.F. Hall and J.E. Grimes (1970) Serology and gross lesions of turkeys inoculated with an avian Influenza A Virus, a Paramixovirus, and Mycoplasma gallisepticum. Avian Diseases. 14:54-65.
- 45) Mireles, V., (1981). Avances en el control de la infección por Mycoplasma gallisepticum. Memorias de la VIII Convención de A.N.E.C.A.
- 46) Mac Guire, W. (1981). Prevención de la enfermedad crónica respiratoria (Mycoplasma gallisepticum), utilizando Kitamicina, Tilosina y una combinación Lincomicina-Espectomicina. Memorias de la VI Convención de A.N.E.C.A.
- 47) Mohamed, Y.S., and E.H. Bohl (1969). Studies on the control of Mycoplasma meleagridis in turkeys. Avian Diseases. 13:440-446.
- 48) Morgan, H.R., and R.E. Luginbuhl (1968). Antibodies for Newcastle Diseases and Mycoplasma gallisepticum in sera from domestic chickens and game fowl of Kenya. Avian Diseases. 12:227-228.
- 49) Nehay, J., and H.E. Adler, and T. Farver (1979). A comparison of three antigens for detection of agglutinins in pullets vaccinated with an attenuated Mycoplasma gallisepticum culture. Avian Diseases 23;434-441.
- 50) Olesiuk, O.M., H. Van Roekel, and N.K. Chandiramani (1964). Control of experimental Mycoplasma gallisepticum infection in young chickens with tylosin and other antibiotics. Avian Diseases. 9:67-77.
- 51) Olson, N.O., K.M. Kerr, and A. Campbell (1964). Control of infectious synovitis. 13. The antigen study of three strains. Avian Diseases. '8:209-214.

- 52) Olson, N.O., H.E. Adler, A.J. Da Massa, and R.E. Corvest (1964). The effect of intranasal exposure to Myco - plasma synoviae, Infectious Bronchitis on development of lesions and agglutinins. Avian Diseases. 8:623-631.
- 53) Olson, N.O., and Kirklyn M. Kerr (1970). A comparison of radiographic lesions in pelvic limbs of chickens infected with Mycoplasma gallisepticum, Mycoplasma synoviae or an Arthritis-Producing Virus. Avian Diseases 14: 654-664.
- 54) Olson, N.O., and J. Meadows (1972). The nicotine adenine dinucleotide of requirement of Mycoplasma synoviae. Avian Diseases. 16:387-396.
- 55) Ose, E.E., et al (1964). Evaluation of antibiotic treatment of Mycoplasma gallisepticum infection by use of chickens and turkey from infected embryos. Avian Diseases. 8:614-622.
- 56) Powell, P.C., (1982). Avian Immunology. Symposium British Veterinary Poultry Association.
- 57) Power, J., and F.T.W. Jordan (1973). The virulence of Mycoplasma gallisepticum for embrionated fowl eggs. Res. Vet. Sci. 14:295-261.
- 58) Rathore, B.S., et al (1979). Pathogenesis of Mycoplasma gallisepticum infection in the reproductive and respiratory tracts of chickens: In vivo and in vitro studies Indian J. Anim. Sci. 49 (11): 932-938.
- 59) Rhoades, K.R., et al (1974). Comparison of strains of Mycoplasma gallisepticum by Polyacrylamide Gel Electro - phoresis. Avian Diseases. 18:91-96.

- 60) Rhoades, K.R., (1975). Antibody responses of turkeys experimentally exposed to Mycoplasma synoviae. Avian Diseases. 19:437-442.
- 61) Rhoades, K.R. (1978). Comparison of Mycoplasma meleagridis antibodies demonstrated by Tube Agglutination and Hemagglutination-Inhibition Test. Avian Diseases. 22:633-638.
- 62) Rimbler, R.B., et al (1978). Infectious Coriza: Preventing complicated coriza with Haemophilus gallinarum and Mycoplasma gallisepticum, Bacterins. Avian Diseases 22:140-150.
- 63) Sadler, W.W., et al (1964). The effect of Mycoplasma gallisepticum infection on the wholesomeness of market turkeys. Avian Diseases. 8:596-614.
- 64) Sahu, S.P., and N.O. Olson (1975) Research note: Hemagglutination-Inhibition versus Serum Plate Agglutination in detecting Mycoplasma gallisepticum in broiler flocks. Avian Diseases. 19:370-374.
- 65) Slavik, M.F., (1980). Development of Microtitration Complement-Fixation Test for diagnosis of Mycoplasma gallisepticum infection in chickens. Avian Diseases. 24:317-323.
- 66) Smith, (1975). The Biology of Mycoplasma. Cel Biology.
- 67) Solana, M.P., (1965). Caracterización de cepas de micoplasma de origen aviar aisladas en México. Técnica Pecuaria en México. Num. 5
- 68) Stone, H.D., et al (1978). Preparation of inactivated oil-emulsion vaccines with avian viral or Mycoplasma antigens. Avian Diseases. 22:666-673.

- 69) Takagi, H., and A. Arakawa (1980). The growth and cilia-stopping effect of Mycoplasma gallisepticum IRF in chicken tracheal organ cultures. Research in Veterinary Science. 28:80-86.
- 70) Timms, L.M. (1978). Mycoplasma synoviae: A review. The Veterinary Bulletin. 48:187-197.
- 71) Tiong, S.K., (1978). Isolation of Mycoplasma gallisepticum from sinuses of three quails (Coturnix coturnix japonica). Veterinary Record. 103: 539.
- 72) Van Herick, W., and M.D. Eaton (1975). An unidentified pleuropneumoniae like organism isolated during passages in chick embryos. J. Bacteriol. 50:47-55.
- 73) Van Roekel., et al (1952). The etiology of chronic respiratory disease of chickens. Am. J. Vet. Research. 13: 252-259.
- 74) Vardaman, H.T., and J.H. Drott (1970). Studies on Mycoplasma synoviae positive broiler breeder farm flocks showing mycoplasma isolations and serological results. Abstracts of papers.
- 75) Vardaman, H.T. and H.W. Yoder Jr (1971). Preparation of Mycoplasma synoviae antigen for the tube agglutination test. Avian Diseases. 15:462-466.
- 76) Vardaman, H.T. and H.W. Yoder Jr (1969). Preparation of Mycoplasma synoviae Hemagglutinating antigen and its use in the Hemagglutination-Inhibition Test. Avian Diseases. 13:654-661.
- 77) White, F.H., et al (1954). Serological and electron microscope studies of chronic respiratory diseases agent of chicken and turkey sinusitis agent. Poultry Sci. 33: 500-507.

- 78) Wyeth, P.J., (1974). Influence of route of infection on response of chickens to Mycoplasma synoviae. Vet. Rec. 95:208-211.
- 79) Yamamoto, R., and H.E. Adler (1958). Characterization of pleuropneumonia like organism of avian origin. I Antigenic analysis of seven strains and their comparative pathogenicity for birds. J. Infected. Dis. 102: 143-152.
- 80) Yamamoto, R., and H.E. Adler (1958b). Characterization of pleuropneumonia like organism of avian origin. II Cultural, biochemical, morphological and further serological studies. J. Infect. Dis. 102:243-250.
- 81) Yamamoto, R., and C.H. Bigland (1964). Pathogenicity to chicks of mycoplasma associated with turkey airsacculitis. Avian Diseases. 8:523-530.
- 82) Yamamoto, R., et al (1965). Characteristics of Mycoplasma meleagridis sp.n. isolated from turkeys. J. Bact. 8:523-30.
- 83) Yoder, H.W. Jr., and M.S. Hofstad (1962). A previously unreported serotype of avian mycoplasma. Avian Diseases. 6:147-160.
- 84) Yoder, H.W. Jr., and M.S. Hofstad (1965). evaluation of Tylosin in preventing egg transmission of Mycoplasma gallisepticum. Avian Diseases. 9:291-301.
- 85) Yoder, H.W. Jr., (1979). Serologic response of chickens vaccinated with inactivated preparations of Mycoplasma gallisepticum. Avian Diseases. 23:493-506.
- 86) Yoder, H.W. Jr (1970). Preincubation heat treatment of chicken hatching eggs to inactivate mycoplasma. Avian Diseases 14:75-86.

- 87) Yoder, H.W., (1976). Diseases of Poultry. 5th edition
Chapter 8 p 282-331.
- 88) Yoder, H.W.Jr., et al (1964). Characterization of avian
mycoplasma. Avian Diseases. 8:481-512-