

# ESTUDIO SEROLÓGICO DE MYCOPLASMA GALLISEPTICUM EN PLANTELES DE GALLINAS DE POSTURA DEL ÁREA INTEGRADA EN EL DEPARTAMENTO DE SANTA CRUZ – BOLIVIA<sup>1</sup>

Claire, A.E.R.<sup>2</sup>; Aguilera, Q.I.<sup>3</sup>; Ardaya, V. C.<sup>4</sup>; Ortiz, R. J. <sup>5</sup>.

Faculta de Medicina Veterinaria y Zootecnia, U.A.G.R.M.

## I. RESUMEN

El objetivo de este trabajo fue evidenciar la presencia de anticuerpos contra *Mycoplasma gallisepticum* (MG) mediante la prueba de Aglutinación Rápida en Placa (ARP) y dilución del suero, tomando muestras de sangre de los plantales de gallinas de postura del área integrada del departamento de Santa Cruz, Bolivia. El área de muestreo se dividió en cuatro cuadrantes, las granjas, galpones en producción y gallinas entre 18 a 80 semanas de edad fueron elegidos al azar. Las muestras sanguíneas fueron tomadas de la vena braquial. Se tomaron 20 muestras por granja en 22 granjas y 10 muestras por granja en 4 granjas, de las cuales se obtuvieron 480 muestras de suero sanguíneo. Las pruebas se procesaron en el Laboratorio de Patología Aviar de la Asociación Departamental de Avicultores Santa Cruz (ADA). Los resultados se analizaron mediante la prueba de comparación de proporciones, Los resultados obtenidos fueron: del total de muestras 55 sueros fueron positivos a MG (11,46%). De 26 granjas muestreadas, 5 resultaron positivas (19.23%). En el cuadrante I, dos granjas fueron positivas (22.22%), en el cuadrante II, una granja positiva (25%), en el cuadrante III, una granja positiva (11.11%) y en el cuadrante IV, una granja positiva (25%). No se demostró diferencia significativa ( $p>0.05$ ) de los resultados entre cuadrantes. Al análisis por edad las aves entre 18 – 56 semanas muestran una positividad del 10.83% y en las aves entre 57– 80 semanas fue de 12.32% no habiendo diferencia significativa ( $p>0.05$ ). Por ultimo la población afectada representa el 11.44% de aves de postura explotadas en los 4 cuadrantes, existiendo una población de 2.150.144 en riesgo de contraer la afección. En base a todo lo expuesto concluimos que: La seroconversión obtenida 11.46%, no ha superado la esperada, que era de un 20%. El 19.23% de granjas avícolas del área integrada de Santa Cruz, son seropositivas a *Mycoplasma gallisepticum*. Quedando establecida la presencia de *Mycoplasma gallisepticum*, en granjas avícolas de postura comercial en el Área Integrada del Dpto. de Santa Cruz.

---

<sup>1</sup> Tesis de grado presentado por Claire, A.E.R., para obtener el título de Médico Veterinario Zootecnista

<sup>2</sup> Calle 21 Av. Mutualista N° 3000. Santa Cruz de la Sierra – Bolivia

<sup>3</sup> Aguilera, Q.I. Catedrático de la Materia de Patología Aviar, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, U.A.G.R.M. , Santa Cruz – Bolivia

<sup>4</sup> Ardaya, V.C. Jefe Laboratorio de la Asociación Departamental de Avicultores (ADA), Santa Cruz – Bolivia

<sup>5</sup> Ortiz, R. J. Jefe Departamento Técnico de la Asociación de Departamental de Avicultores (ADA), Santa Cruz – Bolivia - [dptotecnico@adascz.com](mailto:dptotecnico@adascz.com).

## II. INTRODUCCION

Dentro de las enfermedades que hacen parte del complejo respiratorio infeccioso en pollos de engorde y gallinas ponedoras comerciales, la infección por micoplasma juega un papel relevante por la severidad y el grado de complicaciones secundarias que pueden ocurrir en la enfermedad respiratoria crónica y en las reacciones post-vacúnales contra enfermedades virales; afecciones hoy en día bastante comunes en operaciones avícolas de América Latina.

En los Estados Unidos la micoplasmosis en reproductoras y pollo de engorde ha logrado controlarse e incluso erradicarse de una manera eficaz mediante el uso de políticas estrictas de bioseguridad o criterios de limpieza total “todo adentro, todo afuera” en lotes positivos y a través de políticas del gobierno asociadas con el programa nacional de erradicación – NPIP. Sin embargo, en la actualidad se ha detectado incidencia moderada de seropositividad a nivel ponedoras de huevo comercial donde, por lo general se manejan granjas de múltiples edades.

En efecto, brotes localizados en áreas avícolas de pollos de engorde y/o reproductoras densamente pobladas han estado frecuentemente asociados con seropositividad en gallinas de postura presentes en la región.

Dos especies de micoplasma son de particular importancia económica en pollos y gallinas de postura comercial: *Mycoplasma gallisepticum* (MG) y *Mycoplasma synoviae* (MS), que tienen la capacidad de replicarse de una forma muy eficaz en los epitelios susceptibles. Adicionalmente, otras dos especies, *Mycoplasma meliagridis* y *Mycoplasma iowae*, pueden infectar pavos produciendo serios impactos económicos tanto a nivel de reproductoras como de aves comerciales.

Tres factores epidemiológicos hacen que el control de la micoplasmosis revista bastante importancia en el manejo de las enfermedades del complejo respiratorio: 1) La **supervivencia** del micoplasma por fuera del huésped en objetos inanimados, 2) El estado de “**portadores**” permanentes que adquieren las aves infectadas y, 3) La eficacia de la **transmisión vertical**.

Es muy importante considerar el hecho de que el micoplasma es uno de los pocos agentes de afinidad respiratoria que sobrevive el proceso de incubación y por lo tanto se transmite muy fácilmente de las reproductoras a la progenie.

La importancia económica de la infección por micoplasma, se basa en la capacidad de dichos agentes infecciosos de afectar los parámetros normales de producción tanto en pollos de engorde como en ponedoras reproductoras y de huevo comercial. En efecto, puede haber caídas en la producción de huevos que oscilan entre un 20-25% debidas a infección por micoplasma. De igual manera, la uniformidad, el grado de complicaciones respiratorias secundarias y la viabilidad de los lotes se pueden ver seriamente afectados. La severidad de reacciones post-vacúnales con complicaciones debidas a infecciones bacterianas es también bastante significativo en términos de pérdidas económicas. En el caso del pollo de engorde, quizá uno de los impactos más grandes que pueda producir el micoplasma está relacionado con aerosaculitis al final del ciclo de producción que va a tener una incidencia directa en un mayor número de decomisos a nivel de plantas de sacrificio.

Las infecciones por *Mycoplasma synoviae* (MS), son con frecuencia ignoradas en las prácticas regulares de monitoreo serológico. La experiencia y los registros serológicos en los países de Hispanoamérica indican alta seropositividad de MS a nivel de reproductoras de engorde. Aunque la producción de huevo en infecciones por MS no se vé tan drásticamente afectada como en infecciones por MG, los efectos patogénicos a nivel de tracto respiratorio pueden ser igualmente severos.

Por lo tanto, es importante considerar que infecciones por MS no incluyen solamente problemas de sinovitis.

Actualmente, el uso de bacterinas y vacunas vivas para proteger contra la infección de MS es muy limitado a nivel mundial. La eficacia de los pocos productos que existen está aún en estudio.

La detección y el diagnóstico de la micoplasmosis incluye una serie de pasos secuenciales que empiezan por la detección serológica de la infección. Usualmente las pruebas de aglutinación rápida en placa (ARP) y la prueba de ELISA son utilizadas como herramientas de sondeo preliminar. Debido a su alta especificidad, la prueba de HI se utiliza como prueba confirmatoria de positivos obtenidos en ARP y ELISA.

Cultivos de micoplasma que usualmente preceden a técnicas de identificación precisas como inmunofluorescencia e inhibición de crecimiento son también utilizados con cierta frecuencia como herramientas adicionales de diagnóstico que pueden confirmarse mediante las prueba de PCR.

El uso de bacterinas para proteger contra MG es bastante generalizado. Aves vacunadas con bacterinas pueden desarrollar resistencia a: 1) la presentación de signos respiratorios, 2) aerosaculitis y 3) pérdidas en la producción de huevo. Sin embargo, dichas aves pueden ser fácilmente infectadas por cepas de campo. Por lo tanto, el uso de bacterinas puede tener un beneficio limitado en programas de eliminación del micoplasma en operaciones de múltiples edades.

El uso de vacunas vivas contra MG, está también bastante difundido a nivel de reproductoras y ponedoras comerciales en América Latina. Cada uno de los productos disponibles en el mercado tiene ventajas y desventajas que deben ser consideradas en el momento de diseñar un programa de vacunación ajustado a

las condiciones específicas de determinada operación de reproductoras o ponedoras. Factores como la virulencia de las cepas de desafío de campo, programas de bioseguridad y políticas de control de otro tipo de enfermedades respiratorias de tipo viral principalmente, pueden ser determinantes en el éxito de un programa de vacunación que involucre productos vivos. Por ello es muy importante en términos prácticos considerar que uno de los aspectos críticos que influye en el éxito de la vacuna está relacionado con la implementación de excelentes medidas de bioseguridad que conlleven a la disminución o por lo menos, al control de desafíos de campo.

La terapia antimicoplásmica a dosis bajas puede ser considerada como estrategia simultánea del control de micoplasma cuando se usan programas de vacunación con ciertas cepas. Adicionalmente, el uso de vacunas vivas como estrategia de control de micoplasma debe monitorearse adecuadamente con el fin de verificar el grado de cobertura de vacunación y el nivel de protección ante los desafíos de campo potenciales.

La producción Avícola en el departamento de Santa Cruz, en los últimos años se ha desarrollado a una tasa similar al crecimiento poblacional. Respondiendo así a la demanda interna generada por la población que ha buscado satisfacer sus requerimientos alimenticios.

Según datos estadísticos emitidos por la Asociación de Avicultores de Santa Cruz, en el año 1997 la población de ponedoras comerciales en postura era de 1,5 millones de aves, con una producción de huevos de 443 millones. Actualmente es de 1,9 millones, con una producción de huevos de 585 millones. Mostrando un crecimiento del 26,6 y 32,05% respectivamente. Asimismo, el valor bruto pecuario de la región alcanzo aproximadamente 66,5 millones de dólares. Mostrando esto la importancia socioeconómica del sector.

Sin embargo, factores como: (1) Pobre capital humano tecnificado, (2) inadecuadas barreras de bioseguridad conceptual y estructural entre granjas y (3) La presencia de la micoplasmosis aviar que afecta los parámetros normales de producción en ponedoras de huevo comercial., pueden trastocar todos los beneficios generados, volviendo inviable el sector de postura.

Asimismo trabajos similares al que se desea ejecutar, solo han sido realizados en la década del ochenta, mostrando esto la necesidad de disponer de datos más actualizados sobre la situación epidemiológica de micoplasmosis aviar, a efectos de aportar datos que sirvan para una mejor toma de decisión de los organismos llamados a implementar y ejecutar programas de control y erradicación de enfermedades aviares.

Es por todo lo anteriormente mencionado, que se decidió ejecutar el presente trabajo de investigación, planteando como objetivo general: Realizar el estudio seroepidemiológico de *Mycoplasma gallisepticum*, en sueros sanguíneos de gallinas ponedoras del Área Integrada del Departamento de Santa Cruz, y como objetivos específicos: a) Identificar serológicamente los lotes de ponedoras comerciales positivos a *Mycoplasma gallisepticum*, en cada cuadrante del Área Integrada del departamento de Santa Cruz ; b) Demostrar si existe diferencia entre la prevalencia de *Mycoplasma gallisepticum* de cada cuadrante en el Área Integrada del departamento de Santa Cruz y c) Difundir los datos obtenidos entre los avicultores del Área Integrada del departamento de Santa Cruz y a los organismos del estado llamados a preservar la sanidad avícola.

### III. REVISIÓN BIBLIOGRAFICA

#### 3.1 DEFINICION

La micoplasmosis es una enfermedad infecciosa, contagiosa que afecta principalmente a las gallinas y pavos, y ocasionalmente a muchas otras aves. Se caracteriza por producir signos y lesiones respiratorias y por ser de curso prolongado haciéndose crónico (Whiteman, C. E. y Bickford, A. A. 1981; Zarzuelo, P. E. 1982; Mosqueda, T. A. y Lucio, M. B. 1985).

Se presenta en todas las edades de los pollos y pavos, aunque muy rara vez en aves muy jóvenes, menores de 3 semanas (Whiteman, C. E. y Bickford, A. A. 1983).

Más de 20 serótipos de micoplasmas han sido identificados en pollos, pavos y patos. Los patógenos más significantes son 3: *Mycoplasma gallicepticum*, *Mycoplasma synoviae*, *Mycoplasma meleagridis*. Cada uno presenta características epidemiológicas y patologías distintas (Whiteman, C. E. y Bickford, A. A. 1981).

#### 3.2 HISTORIA

La Enfermedad Respiratoria Cronica (ERC) fue descubierta en los EE.UU. en 1943 por Delaplane y Stuart, quienes informaron por vez primera sobre esta enfermedad, y desde esa época se viene trabajando intensamente, sobre todo en EE.UU. en los problemas suscitados por esta afección y, en particular, sobre su etiología y su diagnostico (Delaplane y Stuart, 1948 a 1950; Fabricant, 1951 Jungherr y Luginbuhl, 1952, 1953, 1955; Van Roekel et al., 1952; Adler y Yamamoto, 1954, 1956; Martínez, 1956; Osteen, 1956; Crawley y Fahey, 1957). En Alemania, han estudiado este problema Fritzsche, en 1952 a 1953 y por Hartwigk en 1958.

Las características esenciales de la ERC son: lenta difusión, dilatación nasal, ruidos respiratorios, persistencia de los signos clínicos como: decrecimiento de la puesta y pérdida de peso. Estos signos concuerdan substancialmente con el tipo III de coriza, según la clasificación de Nelson. En adelante, la denominación de ERC o CRD debería ser sustituida más bien por la de “Mycoplasmosis” Nelson, puesto que la expresión “enfermedad respiratoria crónica” abarca realmente a un complejo sindrómico promovido por diversas causas, mientras que la cosificación de “Mycoplasmosis” delimita esta entidad morbosa de modo inequívoco, desde el punto de vista etiológico. La apostilla “Nelson” garantiza la prioridad del descubridor (Fritzsche, K. Gerriets, E. 1962).

*Mycoplasma gallisepticum* pertenecen a un grupo de microorganismos muy especiales. Los mycoplasmas, fueron denominados originalmente como PPLO (PleuroPneumonia – Like Organisms, organismo tipo pleuroneumonía), pues el primer mycoplasma identificado fue el que causa la pleuroneumonía bovina. El Mg fue aislado inicialmente en 1952 por Van Roekel y Olesiuk (Rios, C. J. F. 2001).

### **3.3 DISTRIBUCION GEOGRAFICA**

El agente que causa la enfermedad respiratoria crónica se encuentra distribuida ampliamente en todo el mundo, pero algunos países como EE.UU. y Canadá tienen programas de erradicación (Mosqueda, T. A. y Lucio, M. B. 1985; Ley, D. H. y Yoder, H. W. 2000; Zarzuelo, P. E. 1982; Whiteman, C. E. y Bickford, A. A. 1981)

### **3.4 IMPORTACIA ECONOMICA**

Esta enfermedad es de gran importancia económica por producir retraso en el desarrollo, disminución en la eficiencia alimenticia, aumento de la mortalidad, de las aves de descarte y decomisos en aves de engorde. En aves de postura y

reproductoras ocasiona: baja en la producción de huevos, así como picos de postura subóptimos, disminución de la incubabilidad, aumento en los porcentajes de mortalidad y desecho (Mosqueda, T. A. y Lucio, M. B. 1985).

Esta es una de las enfermedades aviares más costosas compartiendo esta distinción en los EE.UU. con la enfermedad de Marek y la enfermedad de Newcastle. Hace unos pocos años las pérdidas anuales por Mg se estimaron en 125 millones de dólares (Whiteman, C. E. y Bickford, A. A. 1981).

La aerosaculitis en pollos y la aerosaculitis y sinusitis en pavos pueden ocasionar importantes decomisos al sacrificio casi toda esta pérdida se relaciona de manera directa o indirecta con infección por *M. gallisepticum*, con o sin factores complicantes las pérdidas económicas, baja calificación a los canales, reducción en la conversión de alimentos y en la eficacia de producción de huevos, así como mayores costos en la medicación son factores adicionales que la hacen una de las enfermedades más costosas a las que se enfrenta la industria. Los programas de prevención y control que pueden incluir vacunación, representan costos adicionales (Ley, D. H. y Yoder, H. W. Jr. 2000).

### **3.5 IMPORTANCIA EN SALUD PÚBLICA**

La enfermedad no tiene relevancia en salud pública (Ley, D. H. y Yoder, H. W. Jr. 2000).

### **3.6 ETIOLOGÍA**

El agente etiológico es un microorganismo de la especie *Mycoplasma gallisepticum* perteneciente a la familia *Mycoplasmataceae* y del género *Mycoplasma*.

Los micoplasmas son microorganismos exigentes cuyas medidas oscila entre 0,3 - 0,8 um. de diámetro y necesitan un medio de crecimiento rico que contenga suero. Esta especie de bacterias son pleomórficas es decir que algunas veces se presentan de forma redonda y otras de forma filamentosa o alargadas todo esto debido a la carencia de la pared celular , son inmóviles , aerobias y anaerobias facultativas , GRAM negativos. La infección por Mg se conoce normalmente como enfermedad respiratoria crónica en los pollos y como sinusitis infecciosa en los pavos (Mosqueda, T. A. y Lucio, M. B. 1985; Ley, D. H. y Yoder, H. W. 2000; Zarzuelo, P. E. 1982; Whiteman, C. E. y Bickford, A. A. 1981).

El factor determinante es *Mycoplasma gallisepticum.*, sin embargo este organismo esta asociado con uno o más de los siguientes agentes y su patogenicidad es aumentada por estas asociaciones (factores desencadenantes):

- Virus de la bronquitis infecciosa
- Virus de la laringotraqueitis
- Virus de la enfermedad de Newcastle
- *Pasterella multocida*
- *Haemophilus gallinarum*

También los estados de tensión producidos por el frío, vacunaciones, tratamientos individuales, superpoblación, privación de agua o alimento, fallas de ventilación y humedad en galpón así como factores ambientales.

Algunas afecciones que atacan a la bolsa de Fabricio, el tejido hematopoyetico o ambos son capaces de dispersar la infección por MG, MS, y sus asociados agravando sus consecuencias y lo mas importante son: infección de la bolsa de Fabricio, aflatoxicosis y enfermedad de Mareck (Mosqueda, T. A. y Lucio, M. B. 1985; Ley, D.H. y Yoder, H. W. 2000; Zarzuelo, P. E. 1982; Whiteman, C. E. y Bickford, A. A. 1981).

El factor más importante lo constituyen las cepas patógenas de *E. coli*, capaces de producir una infección sistémica y son responsables de la mayoría de las lesiones exudativas que ocurren (Mosqueda, T. A. y Lucio, M.B. 1985; Ley, D. H. y Yoder, H. W. 2000; Zarzuelo, P. E. 1982; Whiteman, C. E. y Bickford, A. A. 1981; Rojo, M. E. 1991).

Es muy sensible a la mayor parte de los desinfectantes usualmente utilizados en avicultura, tal es el caso de la formalina en concentraciones de 0.2 - 0.5% si no se hallan protegidos en albúmina, caso contrario al 2%, también es sensible a temperaturas superiores a la temperatura corporal, capaz de sobrevivir por años en liofilización (Rios, C. J. F. 2001).

### **3.7 HOSPEDEROS**

El *Mg* muy difícilmente viven en el medio ambiente libre, generalmente sobrevive unas horas o algunos días fuera del hospedador. Ataca todo tipo de aves tales como los pollos, pavos, faisanes, las perdices, chukar pavos reales, codornices, patos, gansos y aves psitácidas, pero principalmente pollos y pavos (Mosqueda, T. A. y Lucio, M. B. 1985; Ley, D. H. y Yoder, H. W. 2000).

### **3.8 EPIZOOTIOLOGÍA**

*Mycoplasma gallisepticum* que a pesar de su poca resistencia en condiciones de vida libre, su incremento de resistencia en asociación con fomites o materia orgánica lo hace ubicuo y difícil de erradicar. La inhalación es la vía de entrada al organismo del animal, a través del polvo, gotas de agua o plumas. Este microorganismo es transmitido principalmente por vía transovariana (es transmitido en algunos de los huevos puesto por portadores inaparentes). La progenie infectada luego transmite el agente horizontalmente, probablemente por aerosoles producidos por el estornudo y por contaminación de agua y alimento (Mosqueda, T. A. y Lucio, M. B. 1985; Whiteman, C. E. y Bickford, A. A. 1981).

Después de la infección muchas aves quedan como portadoras de por vida. El agente puede también ser transmitido por otras especies de aves domesticas o salvajes. Además el agente puede ser transmitido mecánicamente en zapatos, sacos de alimentos y otros (Whiteman, C. E. y Bickford, A. A; 1981; Mosqueda, T. A. y Lucio, M. B. 1985).

Uno de los primeros indicios de la infección en las reproductoras es la mortalidad embrionaria al final de la incubación y en el momento de la eclosión (Mosqueda, T. A. y Lucio, M. B. 1985).

La infección y la provocación consiguientemente de la enfermedad no dependen exclusivamente de la intervención del agente etiológico, sino que la favorece así mismo la debilitación prolongada de la capacidad de resistencia del ganado a consecuencia de estados de estrés, como la superpoblación de los locales, las corrientes de aire el calor y el frío excesivos, los cambios de alojamiento, transporte y otros factores análogos. La participación conjunta de otros gérmenes influye de manera muy esencial sobre el desencadenamiento y el curso de la mycoplasmosis (Dorn P. 1973. y Biester. H. E. 1964).

### **3.9 PERIODO DE INCUBACIÓN**

El periodo de incubación en condiciones experimentales puede variar de 6 a 21 días, pero aparentemente es bastante difícil determinar el momento preciso de infección en condiciones naturales; sin embargo es muy útil saber que los primeros anticuerpos aglutinantes se detectan antes de las 3 semanas post-infección (Zarzuelo, P. E. 1982. Ley, D. H. y Yoder, H. W. 2000).

### **3.10 PATOGÉNESIS**

Cuando el *Mycoplasma gallisepticum* penetra en el aparato respiratorio superior coloniza gradualmente el epitelio, causando exudado carral en senos paranasales, traquea y bronquios, a medida que va avanzando a partes más profundas del tracto respiratorio, hasta llegar a los sacos aéreos, los cuales muestran un exudado caseoso, aunque en ocasiones solo tienen una apariencia acuosa o espumosa. El contacto íntimo del saco aéreo abdominal con el oviducto causa la transmisión directa al aparato reproductivo, causando salpingitis, que es razón directa de la baja de postura que registran parvadas con problemas asociados a la infección Mg, y su consiguiente transmisión a la progenie en el caso de las aves reproductoras (Rios, C. J. F. 2001).

### **3.11 SIGNOS CLINICOS**

Los signos clínicos se desarrollan lentamente en el lote y varían en severidad con los cambios en el tiempo y pueden persistir por semanas y meses. Los signos son similares a los observados en otras enfermedades respiratorias, ellos son estornudos, tos, estertores, descargas nasales y oculares y en pavos hinchazón de los senos infraorbitarios (Mosqueda, T. A. y Lucio, M. B. 1985; Ley, D. H. y Yoder, H. W. 2000; Zarzuelo, P. E. 1982; Whiteman, C. E. y Bickford, A. A. 1981).

Además, en gallinas ponedoras hay disminución en el consumo de alimentos y en la producción de huevos, la mortalidad es baja pero puede haber muchas aves debilitadas (Whiteman, C. E. y Bickford, A. A. 1981; Mosqueda, T. A. y Lucio, M. B. 1985; Ley, D. H. y Yoder, H. W. 2000).

En broilers (3-8 semanas) los signos son más pronunciados en las aves adultas y la enfermedad es más severa. El consumo de alimento y el ritmo de crecimiento se reducen.

Además de estos signos, las aves pueden mostrar depresión, postración severa y plumaje erizado. La mortalidad es variable, pero puede ser alta, especialmente si hay pobre manejo u otros factores de stress. (Mosqueda, T. A. y Lucio, M. B. 1985; Ley, D. H. y Yoder, H. W. 2000; Zarzuelo, P. E. 1982; Whiteman, C. E. y Bickford, A. A. 1981).

### **3.12 MORBILIDAD Y MORTALIDAD**

La morbilidad aumenta progresivamente hasta alcanzar después de varias semanas, el 100% de las aves. La mortalidad es más alta en aves jóvenes que en las adultas ya que éstas son más resistentes a la infección por virus respiratorios. De esta forma cuando la infección fue adquirida en forma intensa a través del huevo, y cuando concurren enfermedades inmunodepresoras, la mortalidad en aves menores de 8 semanas ha llegado a ser hasta del 30%. En el medio avícola común la mortalidad es generalmente menor entre un 5 y 20%. (Mosqueda, T. A. y Lucio, M. B. 1985; Ley, D. H. y Yoder, H. W. 2000).

La mortalidad tal vez no sea importante en parvadas adultas, pero puede haber un decremento en la población en cierto número de aves (Ley; D. H. y Yoder, H. W. 2000).

### **3.13 LESIONES MACROSCOPICAS**

La pobre condición física y pérdida de peso reflejan la presencia de una enfermedad crónica. Hay marcada inflamación catarral de los pasajes y senos nasales, tráquea y bronquios.

Los sacos aéreos están engrosados, opacos y pueden contener folículos linfoides hiperplásicos en sus paredes (nódulos blanquecinos). Además podemos observar aerosaculitis, perihepatitis fibrinosa y pericarditis adhesiva (Mosqueda, T. A. y Lucio, M. B. 1985; Ley, D. H. y Yoder, H. W. 2000; Zarzuelo, P. E. 1982; Whiteman, C. E. y Bickford, A. A. 1981).

En pavos las lesiones pueden estar restringidas a la hinchazón e inflamación de los senos infraorbitarios, además de rinitis, traqueitis y aerosaculitis; en algunos casos pueden haber neumonía fibrinosa. Ocasionalmente las aves en producción (gallinas y pavos) pueden sufrir salpingitis purulenta (Whiteman, C. E. y Bickford, A. A. 1981; Mosqueda, T. A. y Lucio, M. B. 1985; Ley, D. H. y Yoder, H. W. 2000).

### **3.14 LESIONES MICROSCOPICAS**

Se observa engrosamiento de la mucosa de los órganos respiratorios afectados por la inflamación de células mononucleares y la hiperplasia de las glándulas mucosas. En submucosa, hay áreas focales de hiperplasia linfóide (reacciones linfocelulares). En pulmones, además de áreas neumónicas y cambios linfocelulares, hay lesiones granulomatosas (Ley, D. H. y Yoder, H. W. 2000).

### **3.15 DIAGNOSTICO**

#### **Diagnóstico Presuntivo**

El diagnóstico clínico es sencillo, esto se realiza mediante la observación de signos y lesiones. Signos tales como estornudo, estertores traqueales, disnea, disminución de huevo e incuvabilidad y anorexia; en cuanto a las lesiones podemos observar conjuntivitis, tapones caseosos en la bifurcación de la traquea además de rinitis, aerosaculitis, traqueitis, pericarditis, salpingitis, peritonitis, perihepatitis fibrinopurulentas (Mosqueda, T. A. y Lucio, M. B. 1985).

## **Diagnóstico Definitivo**

### **Aislamiento e Identificación**

Mediante cultivo tenemos el aislamiento bacteriológico para detectar colonias de Mg (Mosqueda, T. A. y Lucio, M. B. 1985; Zarzuelo, P. E. 1982; Ley, D. H. y Yoder, H. W. 2000).

El Mg puede crecer en medio de agar enriquecido con suero inoculado directamente o luego de pasajes en caldo o agar. Muchas veces es muy importante obtener crecimiento de la colonia de manera directa a partir de las muestras clínicas. Las placas de agar inoculadas se deben incubar a 37°C en una atmósfera muy húmeda por 3 a 5 días. La evidencia de crecimiento de colonia se estudia mejor con la ayuda de un microscopio de disección con luz indirecta. Las colonias características parecen masas pequeñas lisas circulares con una densa área central elevada. Pocas veces son mayores de 0.2 a 0.3 mm de diámetro y a menudo se presentan en lomas a lo largo de líneas de sembrado, ya que las colonias adyacentes coalescen de manera rápida. Se han observado variaciones en las colonias de aislamientos que representan diferentes especies de microplasmas aviares, pero la designación de la especie de un microorganismo no se puede determinar por sus características morfológicas (Ley, D. H. y Yoder, H. W. Jr. 2000).

### **SEROLOGÍA**

Las pruebas serológicas para la identificación de anticuerpos contra *Micoplasmas gallisepticum*, *M. synoviae* y *M. meleagridis* son las más utilizadas como ayuda de diagnóstico en Laboratorio.

A principios de 1955 Carwley y Cahey propusieron un programa basado en la investigación de anticuerpos aglutinantes presentes en el suero sanguíneo de las aves, que tuvieron infección por *Micoplasmas*.

Los autores sugieren una toma de muestra de sangre de algunas aves del plantel cada dos meses para hacer la prueba de seroaglutinación rápida en placa. La demostración serológica de mycoplasma se consigue, por medio de la aglutinación o de la inhibición de la hemoaglutinación (IHA). Para ambos métodos es indispensable la previa utilización de un antígeno estable y cuidadosamente estandarizado o específico. La sensibilidad de los distintos métodos serológicos puede ser la siguiente por orden decreciente: 1. seroaglutinación rápida 2. prueba hemoaglutinación rápida 3. prueba de IHA 4. seroaglutinación lenta.

La prueba de seroaglutinación rápida, se la lleva a cabo utilizando antígenos preparados específicamente para *Mycoplasma gallisepticum*, *M. synoviae* y *M. meleagridis*, separadamente.

Las pruebas de aglutinación en tubo y en plato son similares. Diluciones de suero de 1:12,5 – 1:25 y 1:50 son frecuentemente probadas, las reacciones a 1:25 o mayores son consideradas positivas. Ambas pruebas, la del plato y tubo son razonablemente aceptadas.

La prueba de aglutinación de la yema se la hace utilizando la yema de huevo diluido en solución salina (1: 10) se puede evidenciar anticuerpos procedentes de aves contaminadas. Esta es una prueba que exige mayores cuidados en la interpretación de la aglutinación y el uso de antígenos de mayor potencia (AGUILERA, Q. I. 1982).

En cuanto al diagnóstico confirmativo, existen varios métodos para la detección de anticuerpos contra Mg. La prueba primaria por excelencia es la aglutinación rápida en placa (ARP). Es muy rápida y sensible, por esta razón es siempre recomendada como prueba tamiz para determinar la presencia o ausencia de infección (Mosqueda, T. A. y Lucio, M. B. 1985; Zarzuelo, P. E. 1982; Ley, D. H. y Yoder, H. W. 2000).

Otras pruebas son la inhibición de la hemoaglutinación (HI), y el análisis inmunoenzimático (ELISA). Estas pruebas detectan IgG, las cuales aparecen después que las aglutininas. Por esta razón, es importante correr estas pruebas como confirmatorias de los resultados previos de la ARP, y no antes (Rios, C. J. F. 2001).

El ARP es una técnica muy sencilla y rápida de realizar. Es de alta sensibilidad por lo cual detecta bajos títulos de anticuerpos, principalmente IgM y en forma temprana (7 a 10 días postinfección). Sin embargo tiene inconvenientes de especificidad ya que puede dar reacciones falsas positivas con sueros de aves vacunadas con bacterinas oleosas o con infecciones de *Staphylococcus* y *Streptococcus*. En esos casos se deben diluir los sueros en PBS (las reacciones inespecíficas desaparecen en bajas diluciones de 1:10). También es común observar reacciones cruzadas suaves entre MG y MS pero en forma tardía.

La inhibición de la hemoaglutinación (HI) es una prueba de muy alta especificidad que se emplea generalmente para confirmar los resultados de ARP y ELISA. Posee baja sensibilidad y detecta IgG luego de los 21 días postinfección. Una forma muy sencilla de confirmar seropositividad en un lote empleando solamente la técnica de ARP es mediante el muestreo seriado con un intervalo de 7 a 10 días. Si el porcentaje de sueros positivos aumenta considerablemente de un muestreo al otro se está ante una infección cierta por micoplasmas. Normalmente el MS tiene una capacidad de difusión mayor al MG.

La técnica de ELISA es una técnica muy sensible que detecta IgG, por lo cual es más recomendada para el análisis de pollitos de un día de vida. Actualmente existen varios "Kits" comerciales de alta especificidad en base a antígenos purificados y ELISAs por bloqueo con anticuerpos monoclonales específicos. Los inconvenientes de esta técnica es que es más costosa que ARP, requiere personal entrenado y equipamiento y detecta títulos de anticuerpos en forma más tardía (15 a 21 días) (CERDÁ, R. O. 2002; KLEVEN, S. H. 2003).

La tecnología de PCR (Reacción de Polimerización en Cadena) es una tecnología patentada y un proceso de Laboratorio en el que un segmento específico de DNA de una mezcla de cadenas de DNA es replicado rápidamente, produciendo una gran cantidad de ADN detectable. Usando este método, la detección de microorganismos específicos (virus o bacterias) o de genes específicos (factor de virulencia) en una muestra es muy rápido (unas horas), muy específico y muy sensibles (teóricamente sólo una copia del gen objetivo sospechoso da un resultado positivo). Es más interesante el hecho de que un individuo positivo puede ser detectado desde el primer día de infección.

Actualmente la tecnología de PCR se aplica para la detección de micoplasmas en aves e incluso en el ambiente mismo de las granjas avícolas. La prueba de PCR más útil es la prueba "PCR múltiplex", capaz de detectar de manera simultánea MG, MS y MM en la misma muestra. Es más, el uso de un control interno (fragmento de DNA agregado a cada muestra) es una garantía de un buen proceso. La especificidad de esta prueba se demuestra en que no se detecta ninguna amplificación con otros micoplasmas o con cualquier especie bacteriana de hallazgo común en avicultura. Por lo tanto, el micoplasma puede detectarse aún si las muestras están altamente contaminadas por otras bacterias (KLEVEN, S. H. 1994).

### 3.16 DIAGNOSTICO DIFERENCIAL

La enfermedad respiratoria crónica (ERC) debe diferenciarse de otras enfermedades con signología similar, ya sea que ocurra por si solas o contaminantes con ERC. Entre estas enfermedades están:

**Laringotraqueitis Infecciosa** : Que produce mayor mortalidad. En las aves muertas se observan hemorragias en traquea y laringe (Mosqueda, T. A. y Lucio, M. B. 1985; Ley, D. H. y Yoder, H. W. 2000).

**Enfermedad de Newcastle (ENC)** : Solo al inicio de la enfermedad puede confundirse con ERC , ya que tiene difusión mas rápida y produce , además de los signos respiratorios ;signos digestivos y nerviosos , con una mortalidad mayor (Mosqueda, T. A. y Lucio, M. B. 1985; Ley, D. H. y Yoder, H. W. 2000).

**Coriza Infecciosa** : Se difunde con rapidez y se caracteriza por producir una inflamación periorbital y sinusal grave, con exudado nasal de olor fétido en su forma crónica. En zonas de alta densidad avícola, es común observar brotes de ERC combinados con coriza infecciosa y otras enfermedades asociadas, lo cual debe tomarse en cuenta en el momento del diagnostico, para hacer las recomendaciones adecuadas (Mosqueda, T. A. y Lucio, M. B. 1985; Ley, D. H. y Yoder, H. W. 2000).

### 3.17 TRATAMIENTO

Una vez determinados los agentes asociados a Mg se emplean antibióticos, aplicados ya sea por vía oral o parenteral. Los siguientes antibióticos son útiles contra Mg:

Tilosina	0,3	g/lt de agua,	ó	30-40 mg/kg p.v.
Eritromicina	0,1-0,2	g/lt de agua,	ó	15-30 mg/kg p.v.
Espectinomicina	0,5	g/lt de agua,	ó	30-40 mg/kg p.v.
Espiromicina	0,5	g/lt de agua,	ó	30-40 mg/kg p.v.
Tiamulina	0,0625	g/lt de agua,	ó	12,5 mg/kg p.v.
Lincomicina	0,3	g/lt de agua,	ó	15-20 mg/kg p.v.

(MERK. 2000; Mosqueda, T.A. y Lucio, M. B. 1985; Zarzuelo, P. E. 1982. Ley, D. H. y Yoder, H. W. 2000).

Otros antibióticos bien usados en el rubro avícola para Mg son la espiramicina, mirosamicina, 3acetil 4isovaleril tartrato, enrofloxacina, gentamicina, oxitetraciclina, josamicina, kitasamicina. El uso de estos terapéuticos tiene algunas ventajas como se nombran a continuación:

- ✓ No altera la serología de las aves
- ✓ Con la medicación ataca a las dos especies (MG, MS).
- ✓ En la vacunación se debe usar las dos vacunas (MG, MS) pues no hay inmunidad cruzada.
- ✓ Si hay algún brote clínico la mayoría de los antibióticos usados afectan a las vacunas vivas.
- ✓ Las vacunas vivas solo funcionan si son aplicadas en aves libres y luego de las 6 semanas (Limón, M. R. 2004)

### 3.18 PREVENCIÓN

Erradicación de la enfermedad mediante la obtención de pollitos libres de Mg, Ms; además de mantenerlos libres se los ubicara en granjas limpias de Mg, Ms (Mosqueda, T. A. y Lucio, M. B. 1985; Zarzuelo, P. E. 1982; Ley, D. H. y Yoder, H. W. 2000).

En el ramo de la inmunización, existen tanto bacterinas inactivadas como vacunas vivas. Las bacterinas inactivadas fueron usadas durante mucho tiempo , sobre todo en reproductoras , porque su costo es también muy elevado para aplicarse en aves de apostura , además , aunque reducen la transmisión vertical y mejoran relativamente la producción de huevo , no evitan la infección , debido a que estimulan la inmunidad circulante , mientras que la inmunidad local , que juega un papel preponderante en la prevención de la infección , no es estimulada (Mosqueda, T. A. y Lucio, M. B. 1985; Zarzuelo, P. E. 1982; Ley, D. H. y Yoder, H. W. 2000).

En el aspecto de las vacunas vivas se han llevado acabo muchos adelantos, hacia finales de la década de los años 80 se desarrollo la cepa 6/85. Varias de sus características técnicas la presentan como la opción más viable en la prevención de la infección por Mg en aves ponedoras. Es totalmente apatógena, y es capaz de mostrar mejoras notables en la productividad. Su método de aplicación, aspersion, la hace un producto mucho mas practico de manejar, su presentación en forma de pastilla liofilizada facilita su almacenamiento y transporte a las instalaciones donde se encuentran las aves a vacunar. Además, dado que expresa una fracción antigena diferente a la mayoría de las cepas de campo de Mg, como la cepa R, es posible monitorear la respuesta serológica de la vacunación, pues no desarrolla aglutininas detectables por las pruebas tradicionales de ARP con antigenos comerciales (Mosqueda, T. A. y Lucio, M. B. 1985; Ley, D. H. y Yoder, H. W. 2000).

Se han realizado muchas investigaciones en EE.UU. y Japon con bacterinas oleosas contra Mg y Ms donde muestran la disminucion, de perdidas en la producción, disminucion de las aerosaculitis y la transmisión vertical. Por otro lado una vacuna viva como la cepa F presento numerosas ventajas entre las cuales describimos a continuación:

- Amplia diseminación de horizontal con una moderada a baja virulencia.
- Fácil aplicación (ocular, intranasal, en aerosol o en agua de bebida).
- Previene pérdidas en la producción de huevos y disminuye significativamente la transmisión vertical.
- Las aves vacunadas son portadoras de por vida sin requerir revacunaciones.

También presento las siguientes desventajas en su aplicación:

- Muy virulenta para pavos o pollos barrilleros.
- Puede producirse lesiones en sacos aéreos al combinarse con vacunas vivas virales.
- Su activa transmisión horizontal puede ocasionar la infección de lotes de aves cercanos.
- Producen reacciones serológicas positivas que dificultan el monitoreo en planes de control.

Otra vacuna viva con virus mutantes termosensibles ts-11 o la cepa 6/85 de distintos laboratorios mostraron las siguientes ventajas sobre la sepa F.

- Son totalmente avirulentas aun siendo combinadas con vacunas virales vivas.
- Pueden ser utilizadas en pavitos, pollos parrilleros o pollas reproductoras.
- Se diseminan muy poco o no lo hacen en forma horizontal.
- Generan reacciones serológicas pobres o nulas.
- Previene las infecciones de sepas de campo.

De todos modos estas vacunas no son útiles para desplazar cepas de campo en granjas ya infectadas, por lo que deben de ser administradas en lotes libres. La principal desventajas de estas vacunas es su susceptibilidad a los antibióticos

usados comúnmente en la industria avícola. Esto se agrava cuando se presentan situaciones de infecciones mixtas con MS, que es bastante común en ponedoras comerciales (Limón, M. R. 2004)

### **3.19 CONTROL**

En los Estados Unidos por ley se sacrifican las parvadas de reproductoras que se infecten con micoplasma. Con este plan, el estado indemniza al productor por sus animales. Esta política es muy difícil de llevar a cabo en naciones con menos recursos. En el caso de las aves de postura, debido a las condiciones en las que son mantenidas, además de que muchas granjas tienen aves de diferentes edades, esta política no se puede aplicar, ni siquiera en los EUA. Los tratamientos con antibióticos son bastante útiles para el control de la transmisión vertical, sin embargo no son lo suficientemente efectivos como para eliminar la infección y erradicar al Mg, además de que su costo es prohibitivo, especialmente para gallinas de postura, pues generalmente se trata de tratamientos programados a base de pulsaciones durante todo el ciclo (Rios, C. J. F. 2001).

Los intentos por eliminar la transmisión de Mg en el huevo mediante medicación de las parvadas reproductoras o, su progenie con estreptomycin, dihidroestreptomycin, oxitetraciclina, clortetraciclina, eritromicina o tilosina, por lo general, producen una reducción considerable en el índice de infección por Mg, pero no se consigue que las parvadas puedan quedar totalmente libre de la infección.

Fabricant, Levine y otros emplearon la inmersión de huevos como un medio de introducir antibióticos en huevos incubables para eliminar Mg transmitidos en huevos. Los huevos se calientan 37.8 °C, se sumergen en soluciones fría de antibióticos, en especial de tilosina o estreptomycin a (40-1000 ppm), por 15 minutos. Debido a la temperatura diferencial el enfriamiento del contenido del huevo provoca que el antibiótico penetre al cascaron. Este procedimiento se

reemplazo por un sistema de presión diferencial mencionado por Alls y colaboradores. En general , estos métodos reducen en gran medida, pero algunas veces no lo elimina de manera completa, la transmisión por huevo (Yoder, H. W. Jr. 1995)

### **3.20 SITUACION MUNDIAL**

Desde 1954, la micoplasmosis aviar viene siendo considerada un serio problema para la avicultura en Japón y otros países asiáticos. En Japón, se comprobó etiológicamente que *Mycoplasma gallisepticum* y *M. synoviae* eran los agentes responsables de casos de enfermedad respiratoria crónica o de sinovitis que afectaron a los pollos en 1962 y en 1973, respectivamente; en otros países asiáticos, como Indonesia la Republica popular de China, Corea, Malasia, Filipinas, Taipei China y Tailandia, se han detectado, por métodos serológicos o etiológicos, casos de micoplasmosis en pollos.

Las condiciones atmosféricas y ambientales adversas, junto con infecciones bacterianas o víricas, desempeñan un importante papel en la propagación de *M. gallisepticum* y *M. synoviae* en las granjas avícolas o en la aparición de micoplasmosis respiratorias clínicas. Las pruebas serológicas son un método de gran importancia para determinar y vigilar la condición sanitaria de las granjas en cuanto a posibles infecciones micoplasmáticas. En establecimientos de bandadas reproductoras libres de micoplasmas es una etapa crucial del control de la micoplasmosis aviar. Para eliminar la transmisión de *M. gallisepticum* al huevo la aplicación de un tratamiento de antibióticos antimicoplasmáticos a bandadas reproductoras infectadas o a su progenie se rebelo un método eficaz, en la medida en que redujo considerablemente la tasa de infección, pero no llegó a eliminar por completo la infección por *M. gallisepticum*. En Japón, el tratamiento térmico previo de los huevos por encubar ha demostrado ser un método eficaz para establecer bandadas reproductoras libres de *M. gallisepticum* y *M. synoviae*. También se ha

aplicado con éxito en Japón y en otros países la vacunación contra la infección por *M. gallisepticum* (<http://www.oie.Int/2002>).

### **3.21 TRABAJOS DE INVESTIGACION REALIZADOS ANTERIORMENTE EN NUESTRO MEDIO**

Como resumen de trabajos anteriores y realizados en nuestro medio, tenemos solo un trabajo y el único sobre el tema Mycoplasmosis Aviar, fue elaborado para obtener el título de licenciatura en nuestra Facultad y presentado por la Dra. I. Aguilera Q. Dicho trabajo fue realizado en el área del Dpto. de Santa Cruz en los meses de Septiembre a Diciembre del año 1981.

En este trabajo se estudiaron tres tipos de producción, reproductoras de parrilleros y ponedoras, parrilleros comerciales y por último ponedoras comerciales de los cuales describimos a continuación, haciendo énfasis en este último (ponedoras comerciales) por tratarse del tipo de producción en el cual se basa el presente trabajo.

De una población de pollos parrilleros de 21 granjas se tomó por método estadísticos de muestreos selectivos al azar 10 granjas para el caso de aves ponedoras, y empleando el mismo sistema de 27 granjas se tomaron 5 y con respecto a plantales de reproductoras se tomaron 4 granjas de 5 Plantas Incubadoras.

De 53 establecimientos se seleccionaron al azar 19 establecimientos avícolas de los cuales 10 granjas eran de pollos parrilleros, 5 eran de gallinas de postura y sólo las granjas de 4 plantas Incubadoras.

Los animales en estudio a nivel de cada granja sorteada fueron tomados al azar en número de 10 aves por parvada, cuya edad oscilaba entre 6-8 semanas para el caso de parrilleros y mayores de 18 semanas en ponedoras y reproductoras.

Se observó un 84.22% de positividad para mycoplasma del cual representaban 21.07% para aves reproductoras de parrilleros y ponedoras, 26.31% en ponedoras comerciales y el 36.34% para parrilleros comerciales. Quedando así un 15.78% de granjas consideradas libres. (Cuadro nº 2)

De una población total de 141.912 aves, se tomaron por métodos estadísticos aleatorios o al azar 424 muestras, correspondientes a 43 lotes de 19 granjas, las cuales fueron sometidas a pruebas de seroaglutinación rápida en placa, observando positividad en 196 casos (46.24%) del cual le correspondían 25.94% a aves reproductoras de parrilleros y ponedoras, 8.96% a pollos parrilleros comerciales y 11.34% a gallinas ponedoras comerciales (Cuadro nº 1).

Analizando cada tipo de producción por separado se tenía lo siguiente:

En reproductoras de parrilleros sobre un total de 43.401 aves, se tomaron 134 muestras de las cuales 93 resultaron positivas (69.39%) y 41 negativas (30.61%) en reproductoras en ponedoras de 6.591 aves se recolectaron 30 muestras obteniendo 17 positivos (56.66%) y 13 negativas (43.34%). Se observó diferencia estadística significativa entre las granjas de reproductoras de parrilleros y ponedoras.

De 71.110 aves de parrilleros comerciales se tomaron 190 muestras, resultando positivo 38 (20.0%) y 152 negativos (80.0%) en el cual se observó diferencias estadísticas significativas ( $P > 0.05$ ).

Por último en ponedoras comerciales de 20.810 aves se obtuvo 70 muestras de las cuales 48 casos resultaron positivos (68.57%) y 22 negativos (31.43%). En este caso también se observó significancia estadística ( $P > 0.05$ ) (Cuadro nº 3).

En cuanto a la identificación de cepas de micoplasmas mediante serología, se identificaron en cinco placas los siguientes resultados; en la placa número uno en aves reproductoras se identificaron cepas de MG, MM, MS. En la placa número dos también en reproductoras se identificaron cepas de MG, MS. En las placas

número tres y cuatro en parrilleros comerciales se identificaron las cepas MG, MM. En la placa numero cinco en ponedoras comerciales se identificaron solo cepas de MG. (Cuadro nº 4).

Esto hace notar que la cepa del MG es muy patógena ya que se encuentra en todos los tipos de producción.

**Cuadro Nº 1**

**DEMOSTRACION GENERAL DE FRECUENCIA DE MYCOPLASMOSIS  
AVIAR EN AVES REPRODUCTORAS Y COMERCIALES DEL  
DEPARTAMENTO DE SANTA CRUZ – BOLIVIA. Sep. – Dic. 1981**

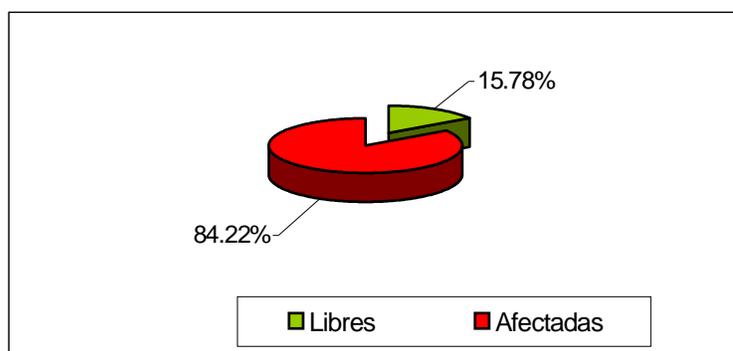
TIPO DE PRODUCCION	NUMERO MUESTRAS PROSESADAS	POSITIVOS		NEGATIVOS	
		Nº	%	Nº	%
Reproductoras de parrilleros y ponedoras.	164	110	25.94	54	12.73
Parrilleros comerciales.	190	38	8.96	152	35.84
Ponedoras comerciales.	70	48	11.34	22	5.19
<b>T O T A L E S</b>	<b>424</b>	<b>196</b>	<b>46.24</b>	<b>228</b>	<b>53.76</b>

Fuente : Aguilera Q. I. (TESIS DE GRADO. 1982).

**Cuadro N° 2**

**COMPARACION DE FRECUENCIA DE MYCOPLASMOSIS  
AVIAR EN DIFERENTES TIPOS DE PRODUCCION DE  
LA INDUSTRIA AVICOLA. SANTA CRUZ – BOLIVIA.**

**Sep. – Dic. 1981.**



TIPO DE PRODUCCION	NUMERO GRANJAS MUESTREADAS	POSITIVAS		NEGATIVAS	
		Nº	%	Nº	%
Reproductoras.	4	4	21.07	-	-
Ponedoras comerciales	5	5	26.31	-	-
Parrilleros comerciales	10	7	36.84	3	15.78
<b>T O T A L E S</b>	19	16	84.22	3	15.78

(P<0.05)

Fuente : Aguilera Q. I. (TESIS DE GRADO. 1982).

**Cuadro N° 3**

**DEMOSTRACION DE FRECUENCIA DE MYCOPLASMOSIS**

**AVIAR EN GRANJAS DE PODEDORAS COMERCIALES.**

**SANTA CRUZ – BOLIVIA. Sep. - Dic. 1981.**

GRANJA NUMERO	NUMERO TOTAL AVES	NUMERO MUESTRAS PROCESADAS	POSITIVOS		NEGATIVOS	
			Nº	%	Nº	%
1	10.000	20	11	15.71	9	12.86
2	4.410	20	19	27.17	1	1.46
3	2.500	10	5	7.14	5	7.14
4	2.300	10	3	4.29	7	10.00
5	1.600	10	10	14.29	-	-
<b>TOTALES</b>	<b>20.810</b>	<b>70</b>	<b>48</b>	<b>68.57</b>	<b>22</b>	<b>31.43</b>

(P>0.05)

Fuente : Aguilera Q. I. (TESIS DE GRADO. 1982).

**Cuadro Nº 4**

**IDENTIFICACION DE CEPAS DE MYCOPLASMAS MEDIANTE**

**SEROLOGIA. SANTA CRUZ – BOLIVIA. Sep. – Dic. 1981.**

NUMERO PLACA	TIPO PRODUCCION	M Y C O P L A S M A S		
		gallicepticum	meleagridis	synoviae
1	Reproductoras.	+	+	+
2	Reproductoras.	+	-	+
3	Parrilleros Comerciales.	+	+	-
4	Parrilleros Comerciales.	+	+	-
5	Ponedoras Comerciales.	+	-	-

Fuente : Aguilera Q. I. (TESIS DE GRADO. 1982).

### **3.22 TÉCNICA O MÉTODO DE AGLUTINACIÓN RÁPIDA EN PLACA PARA LA DETECCIÓN DE ANTICUERPOS PARA MG UTILIZANDO EL ANTÍGENO MYCOPLASMA GALLISEPTICUM COLOREADO EN LAMINA DE INTERVET.**

#### **COMPOSICIÓN**

Este antígeno es una suspensión de gérmenes de MG, cepa S6 de Adler (USA), muertos y coloreados.

El poder aglutinógeno ha sido definido con un suero patrón.

#### **APLICACIÓN**

Detección de la infección por MG en las crías de pollos o pavos. Es posible que todas las aves de una parvada contaminada no reaccionen positivamente: por consiguiente se recomienda utilizar la aglutinación en lámina para el diagnóstico de la parvada y no para la identificación individual de las aves contaminadas.

La infección por MG puede estar potencialmente presente en una parvada. Por ello, se recomienda considerar una parvada como negativa cuando la prueba ha sido repetida varias veces y ha dado un resultado negativo cada una de ellas.

#### **MODO DE EMPLEO**

##### **Materiales:**

1. usar una placa de vidrio bien limpio, con una luz por la parte por la parte inferior (evitar el excesivo calentamiento de la placa).
2. Varilla pequeña para agitar.

El test debe llevarse a cabo entre 20° - 25° C. A temperaturas mayores se pueden observar falsas reacciones positivas en auto-aglutinación.

Después de haber agitado el frasco depositar una gota de antígeno sobre la capa de vidrio añadir otra gota tamaño del suero problema., extender formando un círculo de aproximadamente 1,5 cm. de diámetro, balanceando ligeramente la placa de vidrio, se favorece la aparición de la reacción cuando ésta es positiva.

Esta prueba debe hacerse con suero fresco que no será, en ningún caso congelado, lo que tendría por efecto favorecer las reacciones no específicas.

### **INTERPRETACION.**

Las reacciones positivas son visibles en menos de dos minutos y se caracterizan por la aparición de 'copos' o 'grumos' coloreados de azul. El tamaño de los 'copos' o 'grumos' puede variar, dependiendo éste de la concentración de anticuerpos en el suero. Sólo puede considerarse una reacción como negativa después de un período de observación de dos minutos. Si la aparición de 'copos' o 'grumos' se produce pasados dos minutos, la reacción debe ser considerada como dudosa.

### **CONTRAINDICACIONES.**

No hay ningún peligro ni para el usuario ni para las aves, ya que este producto está inactivado.

### **CONSERVACIÓN Y ESTABILIDAD.**

Se debe tomar en cuenta la fecha de caducidad que está indicado en la etiqueta. En antígeno debe conservarse en la oscuridad y en refrigeración entre 2 - 8 °C. No congelar (<http://www.intervet.es/species/avicultura.asp>).

### **3.23 MÉTODO DE DILUCIÓN DEL SUERO PARA ELIMINAR LA PRESENCIA DE FALSOS POSITIVOS.**

La manera de eliminar la presencia de falsos positivos consiste en diluir el suero de manera que desaparezcan los falsos reactores. Normalmente se mezcla una parte de suero con una parte de una solución tamponada fosfatada y luego se mezcla una gota de esta solución con una gota del antígeno usado para efectuar la prueba. Las diluciones que se hacen son de 1:2, 1:4, 1:8, 1:10. en algunos casos no es necesario llegar a la dilución de 1:8 porque antes de hacerla ya los falsos positivos han desaparecido. Los sueros que reaccionan en 1:8 o 1:10 se consideran positivos. Se ha reportado que la dilución de 1:2 tiene poco efecto en disminuir el número de falsos positivos, mientras que la dilución de 1:4 comienza a disminuir la cantidad, y cuando se trabaja con 1:8 se reduce aún más el número de falsos reactores porque la fuerza de los enlaces que una reacción antígeno-anticuerpo inespecíficas (falsa) no es tan fuerte como los enlaces que une una reacción antígeno-anticuerpo real. Esta teoría se sustenta en el hecho de que aún en el caso de muestras positivas reales que se diluyen hasta 1:10, sigue habiendo reacción de aglutinación, independientemente de la dilución. La desventaja de usar esta técnica es que algunos investigadores consideran que al diluir el suero se puedan dejar de detectar aves que son solo ligeramente positivas, por lo que se recalca que lo ideal es descartar la presencia de reacciones inespecíficas mediante la prueba de HI y cultivo (Contreras, M. 2000).

## IV. MATERIAL Y METODOS

### 4.1 MATERIAL

#### 4.1.1 Localización del área de estudio

Este trabajo de investigación se realizó en granjas de aves de postura ubicadas en el área integrada del Departamento de Santa Cruz, Bolivia. (Provincias: Warnes, Florida, Ichilo, Sara, Santiesteban y Andrés Ibáñez) Mapa Figura N° 1.

El departamento de Santa Cruz, geográficamente esta situado entre los 20°, 20 de latitud Sur, de Norte a 13°, 40; 64°, 40 de latitud Oeste y de Este 57°,30; y tiene una altitud de 416 metros sobre el nivel del mar, cuya temperatura media anual es de 25°C una humedad relativa del 72% y una precipitación pluvial de 1.200mm, políticamente dividido en 15 provincias (<http://www.aasana.bo/organizacion.htm>).

**El área de muestreo esta dividida en cuatro cuadrantes, a saber:**

**Cuadrante I (Nor - Este):** Comprenden las granjas que se encuentran ubicadas hacia la derecha de la carretera al Norte e izquierda de la Carretera a Cotoca.

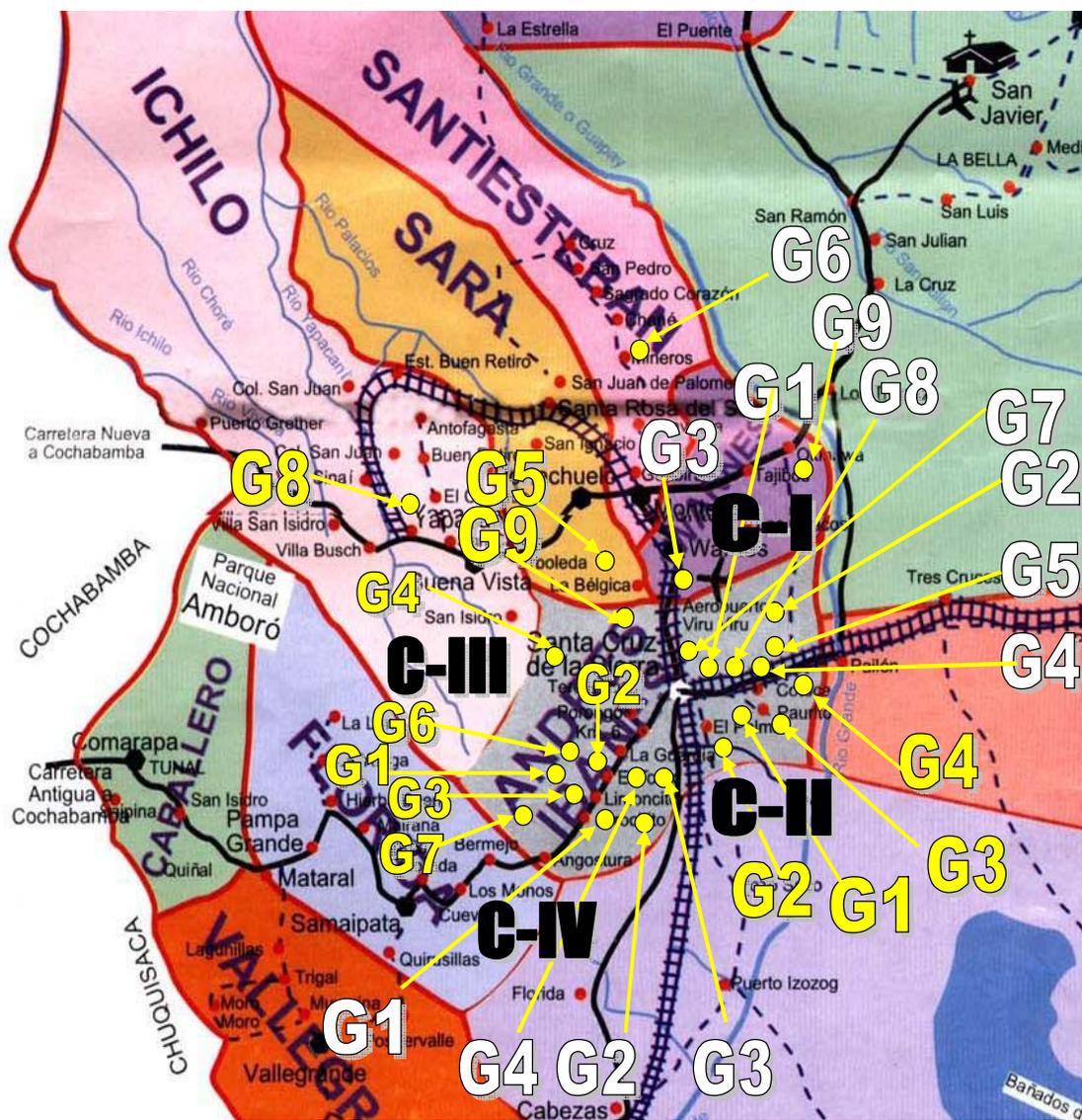
**Cuadrante II (Sur – Este):** Las granjas ubicadas a la izquierda del camino principal a las Brechas del Sur (Av. Santos Dumont) y derecha de la carretera a Cotoca.

**Cuadrante III (Nor – Oeste):** Las granjas ubicadas a la izquierda de la carretera de la carretera al Norte y derecha de la carretera antigua a Cochabamba.

**Cuadrante IV (Sur – Oeste):** Las granjas ubicadas a la izquierda de la carretera antigua a Cochabamba y derecha del camino principal a las Brechas del Sur (Av. Santos Dumont ).

# MAPA: AREA DE MUESTREO

(FIGURA N° 1)



	Carreteras asfaltadas transitables todo el año (carreteras principales).		Iglesias Jesuíticas.
	Carreteras ripiadas y de tierra (caminos secundarios).		Aeropuertos.
	Limites.		Localidades Pobladas.
	Capitales de Provincia.		Ferrovías.

● = Granja (G)  
**C** = Cuadrante

#### **4.1.2 UNIDAD MUESTRAL**

La unidad muestral fue conformada por la población de ponedoras comerciales existentes en las granjas del área avícola de Santa Cruz de la Sierra. Área que para efectos de estudios estadísticos, técnicos y sanitarios el Departamento Técnico de la Asociación de Avicultores (ADA), tiene dividida en cuatro cuadrantes: Cuadrante I (Nor-este) 21 granjas con una población de 440.981 aves, Cuadrante II (Sur-este) 10 granjas con una población de 179.545 aves, Cuadrante III (Nor-oeste) 98 granjas con una población de 1'613.148 aves y Cuadrante IV (Sur-Oeste) 14 granjas con una población de 194.120 aves.

Siendo 143 las granjas totales dentro de los cuatro cuadrantes con una población total de 2'427.794 aves (Fuente: A.D.A. Santa Cruz – Bolivia; EYZAGUIRE, G.L. 2005).

#### **4.1.3 Tamaño Muestral**

El presente trabajo de investigación, según Otte, (1992), se ubica entre los estudios epidemiológicos transversales, los cuales intentan examinar y comparar estimativos de la prevalencia de una enfermedad y de las determinantes de la enfermedad, en una población o entre varios sub grupos de una población, en un punto particular en el tiempo.

Para determinar el tamaño de muestra necesaria para estimar la prevalencia de la Micoplasmosis aviar en la población en estudio, se utilizó la siguiente fórmula propuesta por Otte, (1992), en base a Thrusfield (1990).

$$n = (P * Q) / EE^2$$

**Donde:**

**n = tamaño de muestra**

**P = Prevalencia estimada**

**Q= 100 – P**

**EE= Error estándar de la prevalencia estimada**

Según datos estadísticos sanitarios del laboratorio de patología aviar de ADA, se estima que un 20% de la población de ponedoras comerciales en postura padece de Micoplasmosis aviar. Por lo tanto si se quiere estar seguro en un 95% de que el estimativo estará dentro de un 4% de la prevalencia verdadera.

El tamaño muestral según la formula fue:

$$n = (20 * 80) / 2^2 = 400$$

El tamaño muestral fue distribuido aleatoriamente en los cuatro cuadrantes, es decir que de cada cuadrante se tomarían 100 muestras de sangre de gallinas ponedoras de 5 granjas que serían escogidas aleatoriamente en cada cuadrante. Pero dada las circunstancias de que se disponía de suficiente reactivo como para 80 muestras más y la disponibilidad de algunas granjas, se vio oportuno añadir este número de muestras en el estudio y replantear el número de granjas por cuadrante, siendo los cuadrantes I y III de ha 9 granjas y los cuadrantes II y IV de ha 4 granjas que fueron escogidas al azar teniendo de esta manera un total de 26 granjas y un total 480 muestras.

## **4.2 METODOS**

### **4.2.1 Método de campo**

A nivel de campo, se recolectaron 480 muestras de sangre 2 ml de la vena braquial de una población total de 2'118.516 gallinas ponedoras con edades de 18 a 80 semanas de edad, procedentes de las 143 granjas ubicadas en los cuatro cuadrantes. La sangre fue acondicionada en tubos de ensayo tipo Eppendorf, debidamente identificados y trasladados bajo refrigeración al Laboratorio de Patología Aviar de la Asociación Departamental de Avicultores (ADA).

De un total de 143 granjas ubicadas en los cuatro cuadrantes, se seleccionaron 26 granjas de ponedoras comerciales. Se tomó 20 muestras de cada una de las 8 granjas y 10 muestras de 1 granja en el cuadrante I. En el cuadrante II se tomó 20 muestras de cada una de las 3 granjas y 10 muestras de 1 granja. Del cuadrante III se tomó 20 muestras de cada una de las 7 granjas y 10 muestras de cada una de las 2 granjas. Por ultimo del cuadrante IV se obtuvo 20 muestras sanguíneas de cada una de las 4 granjas asiendo un total de 480 muestras.

El muestreo a nivel de campo se inició en el mes de mayo y concluyó en el mes de agosto (otoño e invierno).

### **4.2.2 Método de laboratorio**

La prueba se realizó en el Laboratorio de Patología Aviar de la Asociación Departamental de Avicultores (ADA), mediante el método de Aglutinacion Rapida en Placa (SARP).

En el laboratorio, la sangre fue sometida a centrifugación para obtener el suero sanguíneo. Posteriormente las muestras fueron analizadas a través del test serológico de seroaglutinación rápida en placa (SARP), utilizando antígenos para *Mycoplasma gallisepticum* de la marca Nobilis. El test consiste en adicionar partes

iguales de antígeno y suero, homogenizando la mezcla y después de 2 minutos verificar la presencia o no de grumos, indicando la formación de complejo antígeno-anticuerpo.

En el caso de muestras sospechosas y positivas se realizó dilución del suero para descartar falsos positivos, utilizando también el mismo antígeno para *Mycoplasma gallisepticum*.

#### **4.2.3 Método estadístico**

Los resultados fueron analizados mediante la prueba de comparación de proporciones (t'student).

## V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### **5.1 Determinación Serológica de la Infección por MG en el Área Integrada del Departamento de Santa Cruz**

El estudio se realizó en 480 muestras de sueros sanguíneos de gallinas ponedoras comerciales, mediante la prueba de Aglutinación Rápida en Placa. Obteniéndose 55 sueros positivos y 425 negativos, que representaron un 11,46% y 88,54%, respectivamente. (Cuadro nº 1 y Cuadro nº 2)

Resultados encontrados por Aguilera, (1981), muestran un 68.57% de reacción positiva para MG, mientras que en el presente trabajo obtuvimos un 11.46% de reacción positiva a MG. Después de 24 años del trabajo anterior podemos observar aún la presencia de la enfermedad, pero con un porcentaje menor con relación al primer trabajo.

### **5.2 Determinación de la Infección de MG en Granjas de Ponedoras Comerciales en el Área Integrada del Departamento de Santa Cruz**

Respecto a la situación de MG, por granja. De un total de 26 granjas estudiadas resultaron positivas 5 granjas que representa el (19.23%) y 21 granjas (80.77%) resultaron negativas, existiendo diferencia significativa ( $P < 0.05$ ) (Cuadro nº 3).

Considerando las características epidemiológicas del MG, el hecho de encontrar un reducido grupo de aves que reaccionen positivamente a MG, es recurso suficiente para considerar un galpón, una granja e incluso una zona o cuadrante infectada por MG.

Bajo esta perspectiva la población afectada es de 277.650 aves, que representa el (11.44%) y la población en riesgo de 2'150.144 aves que representa el (88.56%), de la población, existiendo de esta manera diferencia significativa entre poblaciones ( $P < 0.05$ ) (Cuadro nº 4).

### **5.3 Situación de la presencia de MG por Cuadrantes en Granjas de Ponedoras Comerciales en el Área Integrada del Departamento de Santa Cruz**

El área avícola de Santa Cruz, está dividida en cuatro cuadrantes, que se caracterizan por estar separadas con límites geográficos naturales y artificiales como ser: ríos, montes, caminos vecinales y carreteras tróncales, en una superficie de 27.776 km<sup>2</sup>.

Por los resultados obtenidos, podemos decir que estos límites junto a estrictos controles de bioseguridad en la mayoría de las granjas han tenido sus aciertos aunque todavía se tiene que mejorar. Los análisis serológicos nos revelan en todos los cuadrantes la presencia de Mycoplasma Gallisepticum, con seroconversiones desde 11,11% hasta un 25,00% de las granjas muestreadas (cuadrante I = 22.22%, cuadrante II = 25%, cuadrante III = 11.11% cuadrante IV = 25%), no existiendo diferencia significativa de la prevalencia de la infección por MG entre cuadrantes en el Área Integrada del Departamento de Santa Cruz ( $P > 0.05$ ) (Cuadro nº 5).

### **5.4 Diferenciación de la Infección de MG por la edad en las Granjas de Gallinas Ponedoras en el Área Integrada del Departamento de Santa Cruz**

En el presente estudio al segmentar el total de la muestra en función de la edad de las aves, podemos observar que las aves de 56 semanas tienen 12,32% de seroconversión. Mientras que las aves más jóvenes presentan una seroconversión de un 10,83%. Mostrando que no hay una diferencia significativa en cuanto a grado de afección. ( $P > 0.05$ ) (Cuadro nº 6).

### CUADRO Nº 1

**RESULTADOS DE AGLUTINACION RAPIDA EN PLACA PARA MYCOPLASMA GALLISEPTICUM (MG) REALIZADOS EN SUEROS DE GALLINAS PONEDORAS COMERCIALES EN EL ÁREA INTEGRADA DEL DEPARTAMENTO DE SANTA CRUZ – BOLIVIA May. – Agos. 2005**

<b>Nº TOTAL AVES</b>	<b>Nº DE SUEROS</b>	<b>SUEROS POSITIVOS</b>	<b>%</b>	<b>SUEROS NEGATIVOS</b>	<b>%</b>
2'118.516	480	55	11.46	425	88.54

### CUADRO Nº 2

**PRESENCIA DE MYCOPLASMA GALLISEPTICUM (MG) EN SUEROS OBTENIDOS DE LAS GRANJAS DE GALLINAS PONEDORAS COMERCIALES POR CUADRANTE EN EL ÁREA INTEGRADA DEL DEPARTAMENTO DE SANTA CRUZ – BOLIVIA May. – Agos. 2005**

<b>CUADRANTES</b>	<b>Nº DE MUESTRAS</b>	<b>POSITIVOS</b>		<b>NEGATIVOS</b>	
		<b>Nº</b>	<b>%</b>	<b>Nº</b>	<b>%</b>
<b>I</b>	170	30	17.65	140	82.35
<b>II</b>	70	1	1.43	69	98.57
<b>III</b>	160	4	2.5	156	97.5
<b>IV</b>	80	20	25.0	60	75
<b>TOTAL</b>	480	55	11.46	425	88.54

### CUADRO Nº 3

**SITUACIÓN DE MYCOPLASMA GALLISEPTICUM EN LAS GRANJAS DE  
PONEDORAS COMERCIALES EN EL ÁREA INTEGRADA DEL  
DEPARTAMENTO DE SANTA CRUZ – BOLIVIA May. – Agos. 2005**

<b>Nº DE GRANJAS</b>	<b>GRANJAS POSITIVAS</b>	<b>%</b>	<b>GRANJAS NEGATIVAS</b>	<b>%</b>
26	5	19.23 <sup>(a)</sup>	21	80.77 <sup>(b)</sup>

(P<0,05)

### CUADRO Nº 4

**ESTIMACIÓN DE LA POBLACIÓN AFECTADA Y EN RIESGO POR LA  
INFECCIÓN DE MG EN LA POBLACION TOTAL DE LAS GRANJAS DE  
GALLINAS PONEDORAS COMERCIALES EN EL AREÁ INTEGRADA DEL  
DEPARTAMENTO DE SANTA CRUZ – BOLIVIA May. – Agos. 2005**

<b>POBLACIONES</b>	<b>Nº DE GRANJAS</b>	<b>Nº DE AVES</b>	<b>%</b>
Población afectada	5	277.650	11.44 <sup>(a)</sup>
Población en riesgo	138	2'150.144	88.56 <sup>(b)</sup>
Total	143	2'427.794	100

(P<0,05)

**CUADRO Nº 5**

**SITUACIÓN DE MYCOPLASMA GALLISEPTICUM EN LAS GRANJAS DE  
PONEDORAS COMERCIALES POR CUADRANTE EN EL ÁREA INTEGRADA  
DEL DEPARTAMENTO DE SANTA CRUZ – BOLIVIA May. – Agos. 2005**

CUADRANTES	GRANJAS MUESTREADAS		POSITIVOS		NEGATIVOS	
	Nº	%	Nº	%	Nº	%
<b>I</b>	9	34.62	2	22.22 <sup>(a)</sup>	7	77.78
<b>II</b>	4	15.38	1	25.00 <sup>(a)</sup>	3	75.00
<b>III</b>	9	34.62	1	11.11 <sup>(a)</sup>	8	88.89
<b>IV</b>	4	15.38	1	25.00 <sup>(a)</sup>	3	75.00
<b>TOTALES</b>	26	100	5	19.23 <sup>(a)</sup>	21	80.77 <sup>(b)</sup>

(P>0,05)

**CUADRO Nº 6**

**COMPARACIÓN DE LOS RESULTADOS SEROLÓGICOS DE MG SEGÚN LA EDAD DE LAS PONEDORAS  
COMERCIALES EN EL ÁREA INTEGRADA DEL DEPARTAMENTO DE SANTA CRUZ – BOLIVIA**

**May. – Agos. 2005**

CUADRAN- TES	EDAD DE LAS GALLINAS MUESTREADAS											
	18 – 56 semanas						57- 80 semanas					
	Nº de Muestras	%	Positivos	%	Negativos	%	Nº de Muestras	%	Positivos	%	Negativos	%
I	115	41.5	12	4.33	103	37.18	55	27.1	7	3.45	48	23.64
II	42	15.2	6	2.17	36	13.00	28	13.8	3	1.48	25	12.31
III	90	32.5	8	2.89	82	29.60	70	34.5	9	4.43	61	30.05
IV	30	10.8	4	1.44	26	9.39	50	24.6	6	2.96	44	21.68
<b>TOTAL</b>	277	100	30	10.83(a)	247	89.17	203	100	25	12.32(a)	178	87.68

(P>0,05)

## VI. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

El estudio serológico llevado adelante en el presente trabajo de investigación nos ha permitido arribar a las siguientes conclusiones.

1. La seroconversión obtenida (11.46%), no ha superado la esperada, que era de un 20%.
2. El 19.23% de granjas avícolas del área integrada de Santa Cruz, son seropositivas a *Mycoplasma gallisepticum*.
3. No se encontró diferencia a la presencia de *Mycoplasma gallisepticum*, en los cuatro cuadrantes del área avícola de Santa Cruz.
4. La seroconversión en aves, en fase etarea superior a las 56 semanas de edad es relativamente superior al de las aves jóvenes, constituyéndose así que aves viejas son un peligro inminente para contaminar aves jóvenes dentro de la misma granja a pesar de disponer de núcleos independientes de cría y producción.
5. Queda establecida la presencia de *Mycoplasma gallisepticum*, en granjas avícolas de postura comercial en Santa Cruz de la Sierra.

Las recomendaciones pertinentes que permiten hacer los resultados del presente trabajo son las siguientes:

1. Implementar y mejorar las medidas de Bioseguridad, en las granjas avícolas de Santa Cruz.
2. Agrupar aves uniformes en cuanto a la edad se refiere evitando la diferencia de edades dentro de una misma granja.

3. Replicar trabajos similares cada año a efecto de conocer la dinámica de *Mycoplasma gallisepticum*, en ponedoras comerciales.
4. Realizar trabajos bacteriológicos enfocados al aislamiento de *Mycoplasma gallisepticum*.
5. Implementar políticas sanitaria enfocadas a erradicar el *Mycoplasma gallisepticum* de granjas ponedoras comerciales.
6. Difundir los resultados obtenidos a todos los actores de la actividad avícola, para que en forma conjunta se tomen acciones que permitan su control y se eviten las pérdidas técnicas y económicas que causa esta patología, cuando se presenta como complicada gracias a factores de estrés que predisponen una mayor susceptibilidad de las aves.

## VII. BIBLIOGRAFIA

**AGUILERA, Q. I. 1982.** Participación de la Mycoplasmosis en Cuadros Respiratorios. Crónicos en el Área Avícola del Departamento de Santa Cruz - Bolivia. Tesis de Grado Universidad Autónoma Gabriel Rene Moreno. Santa Cruz, Bolivia. pp. 3 – 30.

**ASOCIACIÓN DEPARTAMENTAL DE AVICULTORES.** 2005, Memoria 2004/2005 Santa Cruz – Bolivia. DOCUMENTO.

**BIESTER, H. E. 1964.** Enfermedades de las Aves. 1ed. Hispano, Americano. Mexico D.F., Mexico. pp. 324 – 325.

**CERDA, R. O. 2002.** Prevención y Control de Micoplasmas. En Memorias V Seminario Internacional en Ciencias Avícolas. Santa Cruz, Bolivia. pp. 112-125.

**CONTRERAS, M. 2000.** Interpretación de pruebas serológicas para MG en aves vacunadas. Revista informativa de Merial – ABU. Georgia 30503. EUA. DOCUMENTO.

**DORN, P. 1973.** Manual de Patología Aviar. Acribia. Zaragoza, España. pp. 85 – 86.

**EYZAGUIRRE, G. L. 2005.** Diagnostico de la situación de la población De gallinas ponedoras en el área integrada del Dpto. de Sta. Cruz Bolivia. Tesis de Grado Universidad Autónoma Gabriel Rene Moreno. Santa Cruz, Bolivia. pp. 43,56.

**FRITZSCHE, K., GERRIETS, E., 1962.** Enfermedades de las Aves. 2 ed. Acribia. Zaragoza-España. pp. 311- 312.

- KLEVEN, S. H. 2003.** Control de la Micoplasmosis Aviar Situación actual. En Memorias XVIII Congreso Latinoamericano de Avicultura. Santa Cruz, Bolivia. pp. 199 – 205.
- KLEVEN, S. H. 1994.** Situación Actual de la Micoplasmosis Aviar. En Memorias VIII Seminario Internacional de Patología Aviar. Athens. Georgia, E.U.A, pp. 693 – 703.
- LEY, D. H. y YODER, H. W. 2000.** Infección por Mycoplasma gallicepticum. En CALNEK, B. W. y COL. Enfermedades de las Aves. 2 ed El Manual Moderno. México, D. F. , México. pp. 198 – 207.
- LIMON, M. R. 2004.** Estrategias para el Control de la Micoplasmosis Aviar. Publicada en Memorias del 3er. Curso Nacional en Sanidad y Producción Avícola. Organizada por AMEVEA. Santa Cruz, Bolivia pp. 71-73.
- MERK, 2000.** El Manual Merk de Veterinaria. 5ed. Océano Centrum. Barcelona, España. pp. 2168 – 2169 – 2170.
- MOSQUEDA, T. A. y LUCIO, M. G. 1985.** Enfermedades Comunes de las Aves Domesticas. 1ed. Salvat. México, D. F., México. pp. 75 - 85.
- RIOS, C. J. F. 2001.** Control de Mycoplasma Gallisepticum en Aves de postura. Tecnología Avípecuaria en Latinoamérica. Año 14 No. 164. Revista Publicada en Septiembre de 2001. pp. 42 – 44.
- ROJO, M. E. 1991.** Enfermedades de las Aves. 2ed. trillas, S. A. México. D. F., México. pp. 20 – 21.
- THRUSFIELD, M. 1990.** Epidemiología Veterinaria. Acribia. Zaragoza, España. pp. 179-180.

**WHITEMAN, C.E. Y BICKFORD, A. A. 1983.** Manual de Enfermedades de las Aves. 2ed. Asociación Americana de Patólogos Aviarios. Pennsylvania, EUA. pp. 146 – 155.

**ZARZUELO, P. E. 1982.** Vademécum de la Patología Infecciosa de las Aves Domésticas. 1ed. Aedos. Barcelona, España. pp. 181 – 185.

**<http://www.intervet.es/species/avicultura.asp>**

**<http://www.aasana.bo/organizacion.htm>**

**<http://www.oie.int/2002>.**