

UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA

E.A.P. DE MEDICINA VETERINARIA

**Prevalencia de anticuerpos a *Mycoplasma meleagridis*
en pavos reproductores en el departamento de Lima**

TESIS

para optar por el título de Médico Veterinario

AUTORA

Rocío Jazmín de María Orosco La Vera

Lima-Perú

2008

A mis padres, Jaime y Gladys, quienes me han apoyado siempre y gracias a ellos estoy
aquí.

A mi esposo Luis, por cada vez que me alentaba a continuar con este proyecto,
acompañándome siempre.

Agradecimientos

A la Dra. Eliana Icochea, mi directora de tesis, por su paciencia, amistad y ejemplo.

A mis asesores, Dra. Norma Noé, Dr. Néstor Falcón, Dr. John Guzmán y Dra. Rosa Gonzáles, por sus correcciones acertadas y palabras de aliento.

A mis amigos, Diana, Ricardo, Janine, Jannet, Cobi y Natalia, por su apoyo, ayuda y estímulo para continuar con este trabajo de tesis.

A mis compañeros de trabajo, Dr. Marco Cisneros, Dr. Jorge Alzamora e Ing. Jorge Cortegana, por su comprensión las veces que tuve que ausentarme del trabajo para continuar con este proyecto.

A la Dra. Sylvia Sayd (Idexx) y al Dr. H. Kleven, por sus geniales aportes para poder concluir esta tesis.

A todos los que de una u otra forma me apoyaron. Muchas gracias.

TABLA DE CONTENIDOS

	Pag.
RESUMEN.....	viii
ABSTRACT.....	ix
LISTA DE CUADROS.....	x
I. INTRODUCCIÓN.....	1
II. REVISIÓN DE LITERATURA.....	3
1. ETIOLOGÍA.....	3
1.1 CLASIFICACIÓN.....	3
1.2. CARACTERÍSTICAS GENERALES.....	4
1.3. ESTRUCTURA ANTIGÉNICA.....	4
1.4. PATOGENICIDAD.....	5
2. HOSPEDEROS.....	6
3. TRANSMISIÓN.....	7
3.1. TRANSMISIÓN VERTICAL.....	7
3.2. TRANSMISIÓN HORIZONTAL.....	8
4. SIGNOS CLÍNICOS.....	9
4.1. AEROSACULITIS.....	9
4.2. DESEMPEÑO REPRODUCTIVO.....	10
4.3. GANANCIA DE PESO.....	10
4.4. ANORMALIDADES ESQUELÉTICAS.....	10
5. LESIONES.....	11
6. RESPUESTA INMUNE.....	12
7. DIAGNÓSTICO.....	13
7.1. AISLAMIENTO E IDENTIFICACIÓN.....	14
7.2. SEROLOGÍA.....	14
8. TRATAMIENTO.....	15
9. PREVENCIÓN Y CONTROL.....	16
9.1. MANEJO.....	16
9.2. VACUNACIÓN.....	17
9.3. ERRADICACIÓN.....	17

III. MATERIALES Y MÉTODOS.....	18
3.1. LUGAR DE ESTUDIO.....	18
3.2. TAMAÑO MUESTRAL.....	18
3.3. POBLACIÓN ANIMAL.....	19
3.4. MATERIALES Y EQUIPOS	19
3.4.1. MATERIALES PARA LA TOMA DE MUESTRAS.....	19
3.4.2. MATERIALES DE LABORATORIO.....	20
3.5. COLECCIÓN DE LAS MUESTRAS.....	21
3.6. DETECCIÓN DE ANTICUERPOS CONTRA <i>M. meleagridis</i> POR LA PRUEBA DE ELISA.....	21
3.7. ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE DATOS.....	22
3.7.1. PREVALENCIA DE LA PRUEBA.....	22
IV. RESULTADOS.....	23
V. DISCUSIÓN.....	27
VI. CONCLUSIONES.....	31
VII. BIBLIOGRAFÍA.....	32

LISTA DE CUADROS

	Pag.
CUADRO N° 1: Datos generales y resultados de la prueba de ELISA para detectar anticuerpos a <i>M. meleagridis</i> en 400 muestras de suero de pavos reproductores.....	24
CUADRO N° 2: Densidades ópticas (O.D.), cociente S/P y títulos de las tres muestras positivas obtenidas de ELISA para detectar anticuerpos contra <i>M. meleagridis</i> en sueros de pavos reproductores.....	25
CUADRO N° 3: Dispersión de los cocientes S/P obtenidos mediante la Prueba de ELISA para detectar anticuerpos contra <i>M. meleagridis</i> en Sueros de pavos reproductores.....	26

RESUMEN

Se determinó la prevalencia de anticuerpos a *Mycoplasma meleagridis* en lotes de pavos reproductores del Departamento de Lima durante el año 2007. Se tomaron 400 muestras de sangre al azar pertenecientes a 20 lotes de pavos reproductores mayores a 8 semanas, machos y hembras, provenientes de los distritos de Asia y Chilca. Las muestras fueron analizadas mediante el ensayo de inmunoabsorción ligado a la enzima (ELISA) a fin de determinar la presencia de anticuerpos a *Mycoplasma meleagridis*. Se encontraron 3 muestras positivas pertenecientes de 3 lotes diferentes, resultando una prevalencia de $0.75\% \pm 0.042$. El porcentaje de seroreacción por lote afectado fue de 5%, muy por debajo del esperado en lotes positivos a *M. meleagridis*. Además, las aves pertenecientes a los lotes positivos no mostraron signos clínicos compatibles con la enfermedad, por lo que se podría interpretar que los 20 lotes examinados no fueron expuestos al microorganismo y que estos resultados se deben a reacciones falsas positivas.

ABSTRACT

A field study was conducted to determine the prevalence of antibodies against *Mycoplasma meleagridis* (MM) in turkey breeder flocks from Lima during 2007. A total of 400 blood samples were taken from 20 different turkey breeder flocks older than 8 weeks of age, males and females, in the districts of Asia and Chilca. The indirect enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) was used to measure the serum antibodies against *M. meleagridis*. A total of 3 positive samples were found in 3 different flocks, which represents a prevalence of $0.75\% \pm 0.042$. The seroreactivity in each affected flock was 5%, far lower than expected in MM-infected flocks. Besides, birds from *M. meleagridis* positive flocks did not show clinical signs compatible to those observed in the disease. According to these findings, it's possible to say that the 20 flocks were not exposed to *M. meleagridis* and that the positive results may be due to false positive seroreactions.

I. INTRODUCCIÓN

La micoplasmosis aviar ocurre en una variedad de especies. Los micoplasmas más importantes para pollos y pavos son *Mycoplasma gallisepticum*, *M. synoviae* y *M. meleagridis*. Asimismo, *M. iowae* es un patógeno emergente en pavos y en poco porcentaje para pollos (Nascimento *et al*, 2005).

Mycoplasma meleagridis es considerado un patógeno específico de pavos reproductores y comerciales causando una enfermedad que se transmite principalmente a través del huevo, cuya lesión primaria es la aerosaculitis tanto en embriones como en pavos recién nacidos (Whiteman y Bickford, 1996; Chin *et al*, 2003).

Desde 1958, se conocía que la aerosaculitis en pavos provenientes de huevos infectados podría estar asociada a un micoplasma diferente a *M. gallisepticum* (Adler *et al*, 1958), hasta que fue designado como *M. meleagridis* por Yamamoto *et al*, (1965).

Análisis posteriores demostraron que era un patógeno común en pavos y que tenía una distribución mundial. Estudios de prevalencia y transmisión fueron realizados en todo el mundo, llegándose a conocer que *M. meleagridis* era perpetuado a través del huevo. Las pérdidas económicas atribuidas a baja incubabilidad y tratamiento de huevos para reducir la infección vertical ascendieron a los 9.4 millones de dólares por año

(Carpenter *et al*, 1981). Se implementaron programas de erradicación de lotes infectados, lográndose una notable disminución en la prevalencia de la enfermedad.

En el Perú, no existe información acerca de su ocurrencia a nivel de planteles de pavos reproductores o pavos comerciales y no hay trabajos reportados sobre la prevalencia de la enfermedad en el país. La presencia de *M. meleagridis* en el Perú, representaría una seria amenaza para la industria avícola, ya que afecta a pavos de todas las edades, sexo y tipo de explotación.

El presente estudio tuvo como objetivo determinar la prevalencia de anticuerpos a *M. meleagridis* en pavos reproductores del Departamento de Lima, donde se concentra el 100% de la población de pavos reproductores de Perú.

II. REVISIÓN DE LITERATURA

1. ETIOLOGÍA

1.1. Clasificación

Todos los micoplasmas pertenecen a la clase Mollicutes, cuya principal característica es ser bacterias que carecen de pared celular, lo que las hace resistentes a los antimicrobianos que actúan a ese nivel, tales como la penicilina (Razin, 1983; Nascimento *et al*, 2005).

Se les ha considerado como agentes extracelulares, pero hoy en día se admite que algunos micoplasmas son parásitos intracelulares obligados, mientras que al resto de micoplasmas se les considera organismos intracelulares facultativos (Razin *et al*, 1998).

Mycoplasma meleagridis fue designado como la cepa N (Adler *et al*, 1958), serotipo H (Yoder y Hofstad, 1964). Inicialmente se le asoció con otros micoplasmas, pero fueron Yamamoto *et al* (1965) quienes propusieron designarla como *M. meleagridis* sp. n. debido a sus características ecológicas y biológicas.

1.2. Características generales

M. meleagridis es un organismo anaerobio facultativo, que crece a 37-38°C y se inactiva a 40-42°C (Yamamoto *et al*, 1965). Por lo general presenta forma esférica, y su diámetro promedio oscila entre los 200 a 700 nm. (Green y Hanson, 1973; Ibrahim y Yamamoto, 1977b), no fermenta dextrosa (Yamamoto *et al*, 1965), hidroliza la arginina y tiene actividad fosfatasa (Jordan, 1983).

Se sugiere que su modo de replicación es mediante fisión binaria (Green y Hanson, 1973). Se presume que primero ocurre una infección intracelular y luego el microorganismo es liberado, formando “microcolonias” para reinfectar otras células y/o replicarse extracelularmente (Fox y Bigland, 1970).

Se conoce muy poco acerca de su resistencia a agentes físicos y químicos (Chin *et al*, 2003), pero se deduce que es fácilmente destruido por factores ambientales y la mayoría de desinfectantes (Whiteman y Brickford, 1996). En algunos estudios se ha demostrado que sobrevive en el aire por lo menos seis horas (Beard y Anderson, 1967) y en los cultivos en agar por lo menos seis días a temperatura ambiente (Ibrahim y Yamamoto, 1977b).

1.3. Estructura Antigénica

M. meleagridis no se relaciona antigénicamente con otros micoplasmas aviares (Chin *et al*, 2003). Evaluaciones realizadas por Elmahi *et al* (1982) indican que algunas cepas de *M. meleagridis* son electroforéticamente distintas a *M. gallisepeticum* y *M. synoviae*. Asimismo, el análisis de epítomos con suero hiperinmune policlonal de conejo y de anticuerpos monoclonales contra *M. meleagridis*, revela que, como para otras especies de micoplasmas, algunos epítomos no son expresados en todas las cepas, evidenciando heterogenicidad antigénica entre cepas de *M. meleagridis* (Dufour-Gesbert *et al*, 2001b).

Algunas cepas poseen actividad hemaglutinante (Elmahi *et al*, 1982), pero a pesar de ello, no se considera a dicha actividad como un factor de virulencia, dado que algunas

cepas sin actividad hemaglutinante pueden ser altamente patógenas (Yamamoto *et al*, 1965). Tampoco se ha evidenciado mayor diferencia antigénica entre cepas hemaglutinantes y las que no lo son (Elmahi *et al*, 1982).

1.4. Patogenicidad

Para sobrevivir dentro del organismo, *M. meleagridis* usa herramientas y mecanismos de patogenicidad a fin de inducir enfermedad y evadir la respuesta inmune del hospedero. Estos mecanismos incluyen la adherencia a la célula huésped y apoptosis (Nascimento *et al*, 2005).

Se presume que la cápsula extracelular de mucopolisacáridos que presenta *M. meleagridis*, es la que permite su adherencia al epitelio del huésped, por lo que sería un importante factor de virulencia (Green y Hanson, 1973). Dicha unión causaría alteración de la estructura de la membrana celular del huésped, inflamación y necrosis (Lam *et al*, 2003b).

Dentro de las funciones de la cápsula extracelular podemos mencionar también la protección contra saprofitos y la motilidad y flexibilidad, requerida especialmente durante su división celular y ruptura de la membrana (Green y Hanson, 1973; Razin, 1983).

Otros mecanismos consisten en la imitación molecular (antigénica) que puede conducir a tolerancia por parte del huésped, el efecto mitótico sobre los linfocitos B y/o T, que podría llevar a una supresión de la función y/o producción de las células T citotóxicas, y la producción de subproductos del micoplasma, tales como el peróxido de hidrógeno y radicales superóxido (Nascimento *et al*, 2005). La habilidad de los micoplasmas de estimular macrófagos, monocitos, células T helper y células NK, da como resultado la producción de sustancias tales como el factor de necrosis tumoral (TNF- α), interleucinas (IL-1,2,6) y el interferón (α , β , γ). Estos mecanismos pueden explicar la supresión transitoria de la respuesta inmune celular y humoral durante las infecciones con micoplasmas, la inmuno tolerancia y la masiva infiltración de células linfoides en el tracto respiratorio y en articulaciones (Razin *et al*, 1998; Lam *et al*,

2004). Estudios recientes sugieren que la respuesta inmune en pavos infectados con *M. meleagridis* es similar a la de pollos bursectomizados, ya que ante un desafío antigénico, la respuesta humoral es significativamente baja, siendo más evidente la supresión en la respuesta secundaria (Ig G) (Ortiz *et al*, 1981).

La latencia es otro fenómeno común (Nascimento *et al*, 2005). Una vez en el organismo, *M. meleagridis* se encuentra en estado latente y se localiza intracelularmente, por lo que no es reconocido por el sistema inmune del hospedero (Razin *et al*, 1998).

Es frecuentemente observado en las membranas mucosas del huésped (Clyde, 1983), por lo que ha sido aislado de esófago, tracto respiratorio, sacos aéreos, cloaca, Bursa de Fabricio, oviducto, falo, vagina e inclusive también ha sido verificado en semen de aves infectadas (Yamamoto *et al*, 1965; Jordan, 1983).

2. HOSPEDEROS

Mycoplasma meleagridis es un patógeno específico de pavos (Yamamoto *et al*, 1965; Chin *et al*, 2003). La alta infectividad y la baja mortalidad que causa *M. meleagridis* en embriones de pavo bajo condiciones experimentales y naturales, indican que se trata de una relación ideal entre parásito y hospedero (Chin *et al*, 2003).

No obstante, Lam (2004) ha demostrado que *M. meleagridis* es un patógeno potencial de embriones y células de pollo. En embriones de pollo inoculados con *M. meleagridis* se encontraron anomalías en los dedos así como tráqueas sin epitelio, en células tumorales de pollo se redujo la capacidad de liberar un agente quimiotáctico que ocasiona la liberación de heterófilos.

Asimismo, existen reportes de la existencia de anticuerpos a *M. meleagridis*, hallados mediante la prueba de seroaglutinación en placa (SPA) en urogallos chicos (*Tympanuchius pallidicinctus*) en el Estado de Kansas (USA) (Hagen *et al*, 2002) y en pavos reales (*Pavo cristatus*) de tres zoológicos de Michigan (USA) (Hollamby *et al*, 2003). En Alemania ha sido reportado en aves de presa de vida libre en un 7.3 %, habiéndose aislado e identificado a *M. meleagridis* en muestras provenientes de

hisopados traqueales. Estas aves no mostraron ningún signo clínico, ni lesiones histopatológicas relacionadas a la enfermedad, pero se les podría considerar como portadores (Lierz *et al*, 2000).

3. TRANSMISIÓN

La transmisión de la enfermedad ocurre de forma vertical y horizontal.

3.1. Transmisión Vertical

M. meleagridis es perpetuado principalmente a través del huevo (Chin *et al*, 2003). La infección del tracto reproductivo femenino ocurre como consecuencia de una infección endógena durante el desarrollo embrionario (Yamamoto *et al*, 1966), de manera ascendente desde la cloaca o la bursa de Fabricio hasta el tracto genital femenino luego de la perforación de la membrana oclusiva a la madurez sexual a las 27 o 28 semanas de vida (Matzer y Yamamoto, 1970) o por inseminación artificial con semen contaminado, siendo ésta la principal vía de infección del huevo (Kleven y Pomeroy, 1971a; Whiteman y Brickford, 1996). Se sugiere que es necesaria una continua reinfección del tracto femenino con semen contaminado para mantener la transmisión de *M. meleagridis* a los huevos y para mantener la infección vaginal.

M. meleagridis ha sido encontrado en varios sitios del oviducto, con una mayor frecuencia en la vagina y útero (Jordan, 1983; Chin *et al*, 2003) e inclusive los ovarios (Rhoades, 1969). No obstante tiene el potencial de infectar al huevo en desarrollo en varios lugares del oviducto, siendo el área de la fimbria y el mágnum los puntos más críticos (Chin *et al*, 2003). Este microorganismo ha sido aislado de la membrana de la cáscara y de la membrana vitelina de huevos preincubados provenientes de madres infectadas de manera natural (Ghazikhanian *et al*, 1980b).

El porcentaje de transmisión a la progenie puede ser del 26% (Rhoades, 1969) y no ocurre en hembras en las cuales el microorganismo se encuentra solamente en el tracto respiratorio alto (Yamamoto, 1967). Se ha reportado que la transmisión es mínima durante las primeras semanas del inicio de la postura, alcanza el máximo a la mitad del

periodo y declina gradualmente al final del periodo de postura (Bigland y Benson, 1968; Fox y Bigland, 1970 y Kleven y Pomeroy, 1971b). Esto se vería relacionado a los resultados encontrados por Rott *et al* (1989) en aislamientos de *M. meleagridis* provenientes de hisopados cloacales y de paladar de hembras y machos reproductores, los que fueron positivos en un 50 a 60% durante el periodo previo al inicio de postura, en un 100% al inicio del periodo de postura y en un 80% a las catorce semanas de postura. Asimismo, *M. meleagridis* fue identificado en un 50% de huevos embrionados provenientes de la primera semana de postura y en un 100% a la cuarta semana.

En la progenie procedente de huevos infectados, se difunde y se localiza en el tracto reproductivo (Whiteman y Bickford, 1996), aislándose no solo del tracto respiratorio de embriones, sino también del oviducto y falo (Bigland, 1972). En infecciones experimentales de tracto reproductivo de hembras, se observa la aparición de infección de la cavidad peritoneal pero no de los sacos aéreos adyacentes, lo que indica una resistencia a la extensión de la infección del tracto reproductivo hacia el tracto respiratorio (Rhoades, 1969). En machos, se localiza generalmente en la cloaca y/o en el falo, donde permanece sin ascender a los vasos deferentes (Yamamoto, 1967; Rhoades, 1969). El semen colectado de dichos machos puede contener el agente (Yamamoto, 1967). Se ha demostrado que *M. meleagridis* permanece viable hasta por seis meses en el semen congelado, e inclusive durante su criopreservación y posterior descongelación (Ferrier *et al*, 1982).

Asimismo, *M. meleagridis* tiene predilección por la Bursa de Fabricio, donde puede permanecer hasta por 21 semanas (Matzer y Yamamoto, 1970) causando inmunosupresión, lo que puede explicar porque pavos infectados son más susceptibles a otras infecciones especialmente la colisepticemia (Whiteman y Bickford, 1996).

3.2. Transmisión Horizontal

La transmisión horizontal puede ocurrir de manera directa o indirecta y a cualquier edad del animal (Chin *et al*, 2003).

La transmisión directa puede ocurrir dentro de una incubadora (Kumar y Pomeroy, 1969), dentro de un lote (Yamamoto y Ortmayer, 1967) o inclusive entre lotes separados por millas de distancia (Ghazikhanian et al, 1980b). Los microorganismos se difunden lateralmente vía aerosoles del tracto respiratorio (Whiteman y Bickford, 1996). La transmisión vía aérea en pavos adultos presenta un alto porcentaje de infección, el cual asciende del 80 al 100% dentro de un lote (Kleven, S. H., comunicación personal), localizándose principalmente en las vías respiratorias (Jordan, 1983).

La transmisión indirecta ocurre durante las maniobras de manejo como sexaje, palpación vaginal, inseminación artificial y vacunaciones (Whiteman y Bickford, 1996; Chin *et al*, 2003).

4. SIGNOS CLINICOS

Los signos principales de la infección por *M. meleagridis* en pavos son aerosaculitis, baja incubabilidad, pobre ganancia de peso, anormalidades esqueléticas (Whiteman y Bickford, 1996; Chin *et al*, 2003) y mortalidad embrionaria tardía (Carpenter *et al*, 1981).

4.1 Aerosaculitis

Bigland y Benson (1968) reportaron que del total de aves que presentaron lesiones en los sacos aéreos, *M. meleagridis* fue aislado del 88% de ellas, lo que confirma el concepto de que *M. meleagridis* es la causa de aerosaculitis.

Algunas aves pueden tener cuellos encorvados, hecho asociado a una osteomielitis deformante en las vértebras cervicales (Whiteman y Bickford, 1996). La aerosaculitis del saco aéreo cervicoclavicular, se puede extender al espacio intrarticular de las vértebras cervicales, originando osteomielitis, osteoartritis y deformaciones cervicales (Cardona y Bickford, 1993).

A pesar del gran porcentaje de aerosaculitis en pavos, los signos respiratorios son raramente observados. La infección horizontal, que puede ocurrir de manera directa o

indirecta en pavos adultos, lleva a un gran porcentaje de infección pero raramente a una enfermedad clínica. Es por ello que la infección causada por *M. meleagridis*, ocurre mayormente de manera subclínica en pavos adultos (Whiteman y Bickford, 1996; Chin et al, 2003).

4.2. Desempeño Reproductivo

Existen generalmente problemas de baja incubabilidad en huevos provenientes de lotes infectados (Carpenter *et al*, 1982a; Whiteman y Bickford, 1996). Este porcentaje puede llegar al 5% (Carpenter *et al*, 1981).

Por otro lado, *M. meleagridis* también es el causante de mortalidad embrionaria tardía (25-28 días de incubación) tanto en embriones infectados naturalmente como artificialmente (Carpenter *et al*, 1981).

4.3. Ganancia de Peso

Es conocido que la pobre ganancia de peso es otro signo de la infección (Chin *et al*, 2003). A pesar de ello, estudios realizados por Carpenter *et al* (1982b) demuestran que no existe diferencia significativa entre la ganancia de peso de pavos no infectados vs. los infectados. Inclusive en algunos casos, los pavos infectados demuestran mayor ganancia de peso, lo que nos hace suponer que existe una selección natural de los embriones débiles, quedando sólo los capaces de sobrevivir y sobrellevar la infección (Carpenter *et al*, 1982a).

4.4. Anormalidades Esqueléticas

Existe un alto número de animales infectados con deformidades óseas y perosis en ambas patas (Whiteman y Bickford, 1996).

Se presumía anteriormente que *M. meleagridis* puede privar al embrión de biotina, resultando en un desarrollo esquelético anormal (Bigland y Warenycia, 1978). Otros estudios sugieren que el microorganismo puede competir por la arginina, un aminoácido

esencial para el correcto desarrollo de los huesos (Yamamoto *et al*, 1974). A pesar de ello, Ibrahim y Yamamoto (1977a) demostraron que diferentes cepas de *M. meleagridis* no mostraron diferencia en sus requerimientos de arginina y no se encontraron diferencias significativas en los niveles séricos de arginina de pavos infectados y no infectados y que presentaban anormalidades óseas.

5. LESIONES

Las principales lesiones se presentan en los sacos aéreos y afectan a embriones (Whiteman y Bickford, 1996) y a pavos de un día de edad a 20 semanas de vida o más (Bigland *et al*, 1968; Bigland, 1969). La prevalencia de la infección y las lesiones son mayores en los pavos bebés de descarte que en los normales (Fox y Bigland, 1970), encontrándose en un alto porcentaje (44%) alrededor de las seis semanas de edad, resolviéndose gradualmente y disminuyendo en severidad hasta las 12 a 16 semanas de vida (Bigland, 1969). En algunos casos, las infecciones se extienden hasta los sacos aéreos abdominales, siendo éstas de mayor severidad.

Estudios en embriones natural y artificialmente infectados sugieren que la ingestión o inhalación de líquido amniótico infectado con *M. meleagridis* es la causa de la infección tanto del tracto respiratorio como el digestivo (Rhoades, 1971a).

Las lesiones se caracterizan por el engrosamiento de las paredes del saco y la adherencia de un exudado amarillento a los tejidos, con presencia ocasional de material caseoso (Bigland y Benson, 1968; Bigland, 1969; Whiteman y Bickford, 1996; Chin *et al*, 2003). Histológicamente, la membrana del saco aéreo revela metaplasia epitelial, infiltración linfocítica y múltiples áreas linfo-foliculares (Bigland y Benson, 1968).

Las lesiones en embriones se remiten a una aerosaculitis y neumonía exudativas, que ocurren durante el último periodo de desarrollo embrionario, que es cuando ocurre la madurez de las células inflamatorias embrionarias (Rhoades, 1971a).

Otras lesiones se encuentran en el tracto respiratorio, Se conoce que durante el desarrollo embrionario, *M. meleagridis* tiene una predilección por los tejidos destinados

a formar el tracto respiratorio, presumiendo que estos tejidos se encuentran bioquímicamente adaptados para proveer los nutrientes necesarios para su crecimiento (Bigland, 1972). Lam *et al* (2003a) han demostrado que la infección por *M. meleagridis* puede causar daño en la superficie traqueal, observándose disminución en el número de cilios del epitelio traqueal y descamación de las células epiteliales.

La infección puede concurrir con otros micoplasmas, e incrementar la severidad de las lesiones (Whiteman y Bickford, 1996). El sinergismo entre *M. synoviae* y *M. meleagridis* produce sinusitis en pavos (Rhoades, 1977). Se sabe también que *M. synoviae* produce una severa aerosaculitis por si mismo, lesión que también se observa en infecciones de *M. synoviae* y *M. meleagridis*, por lo que se presume que el efecto de *M. synoviae* por si solo enmascara el efecto causado por la infección mixta (Rhoades, 1981). Aparentemente, la importancia de infecciones mixtas de micoplasmas, como una causa de infecciones respiratorias en pavos, es la que se da con aquellos micoplasmas que por si solos producen enfermedad leve o no producen enfermedad (Rhoades, 1981).

En lo que respecta a las lesiones en el tracto reproductivo, los pavos reproductores adultos son libres de lesiones macroscópicas en los genitales, pero a pesar de ello, las lesiones microscópicas atribuibles a *M. meleagridis* se presentan en el tracto reproductivo de las hembras y consisten en acúmulos linfoides (Rhoades, 1971b).

M. meleagridis también puede causar deformaciones óseas en pavos jóvenes. Estudios con el microscopio electrónico de barrido analizando articulaciones tarso-metatarsianas de embriones inoculados con *M. meleagridis* que presentaron deformidad en los dedos, mostraron fisuras en los cartílagos articulares. Histológicamente se observó infiltración de células con gránulos eosinofílicos, encontrándose presencia de agregados de *M. meleagridis* en las células de la médula ósea (Lam *et al*, 2004).

6. RESPUESTA INMUNE

La presencia de anticuerpos a *M. meleagridis* en sangre puede detectarse a partir de la tercera semana de edad en pavitos infectados de manera vertical y a la cuarta o quinta semana post infección en pavos infectados por contacto directo (Chin *et al*, 2003),

habiéndose verificado mediante inoculaciones experimentales de pavos con *M. meleagridis*, que existe una respuesta temprana de Ig M y luego de Ig G, cuya presencia es detectada a partir de los 14 días de inoculación, manteniéndose hasta las 12 semanas post inoculación (Kleven y Pomeroy, 1971b), alcanzando los máximos títulos a la cuarta semana post-exposición (Rhoades, 1969).

Los anticuerpos maternalmente derivados se encuentran en la yema de los huevos provenientes de hembras inmunizadas. Estos anticuerpos son detectables por seroaglutinación en placa (SPA) desde el primer día de vida de la progenie y persisten por menos de dos semanas (Yamamoto y Bigland, 1964). Contrariamente, en un estudio realizado por Bigland (1969) en pavos infectados, desde el primer día a la vigésima semana de vida, se encontró que el 100% de los pavos fueron positivos a SPA al primer día, disminuyendo hasta el 21% a la cuarta semana, encontrándose un rápido incremento al 92% a la sexta semana y manteniéndose así hasta el final del estudio. Este fenómeno nos llevaría a pensar que la inmunidad materna protege a los pavitos hasta la cuarta semana de vida, tiempo en el cual, la respuesta inmune del ave comienza a evidenciarse. Se conoce también que dichos anticuerpos maternos no son protectivos contra el desarrollo de lesiones en los sacos aéreos de embriones infectados (Yamamoto *et al*, 1966).

La intensidad de la respuesta inmune depende de la ruta de inoculación (Kleven y Pomeroy, 1971a). Pavos infectados vía intravenosa, desarrollan títulos más altos, así como los que tienen lesiones activas de los sacos aéreos.

7. DIAGNOSTICO

A pesar de que ciertas características culturales y biológicas son importantes para la identificación de *M. meleagridis*, la identificación definitiva se hace a través de la serología (Yamamoto *et al*, 1965).

7.1. Aislamiento e Identificación

M. meleagridis puede ser cultivado en agar PPLO (Difco), enriquecido con suero de equino (15%) y levadura autolisada (1%) (Yamamoto *et al*, 1965). A este medio se le debe agregar acetato de talio (1:4000) y penicilina (1000 units/mL) como inhibidores del crecimiento de bacterias contaminantes (Chin *et al*, 2003). Puede ser necesario adicionar un fungicida al medio en casos donde se encuentre cantidades representativas de hongos (Yamamoto, 1995).

El microorganismo puede ser aislado de de esófago, tracto respiratorio, sacos aéreos, cloaca, Bursa de Fabricio, oviducto, falo y vagina (Yamamoto *et al*, 1965; Jordan, 1983). A las cuatro a seis días de incubación, el crecimiento de las colonias se hace aparente (Chin *et al*, 2003).

M. meleagridis se diferencia de otros micoplasmas por no utilizar dextrosa y su habilidad por metabolizar arginina (Ibrahim y Yamamoto, 1977a; Jordan, 1993). Algunas pruebas bioquímicas son útiles para diferenciar micoplasmas aviares dentro de un amplio grupo, pero generalmente no son discriminativos para la identificación de especie. Se utiliza la prueba de anticuerpos fluorescentes (FA), la prueba de inmunoperoxidasa y la prueba de inhibición del crecimiento (Yamamoto, 1995). Adicionalmente, un ensayo de inmunoabsorción ligado a la enzima (ELISA) de captura de antígeno se ha desarrollado para la detección de antígenos de micoplasma directamente del cultivo y aparenta ser altamente específico y sensible (Abdelmoumen, 1995a).

7.2. Serología

En los animales adultos, la infección por *M. meleagridis* transcurre de manera subclínica (Whiteman y Bickford, 1996; Chin *et al*, 2003), por lo que en los planteles de reproductores se emplean pruebas serológicas para monitorear los lotes, siendo la seroaglutinación en placa (SPA), la inhibición de la hemaglutinación (HI) y el ensayo de inmunoabsorción ligado a la enzima (ELISA) indirecto, las pruebas más empleadas (Yamamoto, 1995).

No obstante, por su alta especificidad, simplicidad y menor costo, ELISA es la prueba que generalmente se emplea para el monitoreo de lotes (Cassell *et al*, 1983). Otra prueba desarrollada para el monitoreo de lotes es el ELISA de bloqueo (Dufour-Gesbert *et al*, 2001a).

Comparativamente, en ensayos para detectar anticuerpos a *M. gallisepticum* en infecciones experimentales en pollos, ELISA resulta ser más específico y más sensible que SPA y HI respectivamente (Talkington *et al*, 1985).

La prueba de HI es otra herramienta útil y de alta especificidad para detectar anticuerpos a *M. meleagridis*, y se utiliza para confirmar los resultados de SPA y ELISA. Su mayor inconveniente es la escasa disponibilidad de antígenos comerciales y la obtención de antígenos caseros con altos títulos hemaglutinantes. Su conservación en el laboratorio por largo tiempo es otro serio problema como así también la interpretación de los resultados y la correlación de interlaboratorio. La metodología para su realización es bastante compleja, necesitando personal entrenado y glóbulos rojos de calidad (Cerdá, 2007).

8. TRATAMIENTO

El tratamiento con antibióticos de los lotes infectados con *M. meleagridis* reduce el porcentaje de manifestaciones clínicas, pero no elimina al agente del lote (Nascimento *et al*, 2005).

Muchos antibióticos han sido evaluados para verificar su actividad contra *M. meleagridis*. Es conocida la sensibilidad de *M. meleagridis* a los macrólidos, quinolonas y tetraciclinas y su eficacia en el control de la aerosaculitis deben ser evaluadas (Whiteman y Bickford, 1996; Nascimento *et al*, 2005).

La combinación de lincomicina y espectinomicina a razón de 2 gr/gal. en el agua de bebida durante cinco días resulta ser eficaz en reducir la aerosaculitis y mejorar el desempeño productivo cuando se le comparó con la tilosina (Hamdy *et al*, 1982).

Lamentablemente el diagnóstico etiológico de los micoplasmas se ve comprometido por todos estos potentes antibióticos, debido a que bloquean o reducen la respuesta inmune y porque obligan al microorganismo a evadirla escondiéndose en los tejidos afectados, haciendo que no se puedan detectar por cultivo o PCR (Nascimento *et al*, 2005). Este hecho se puede revertir suspendiendo el tratamiento, de tal forma que los micoplasmas puedan ser detectados nuevamente. Este fenómeno puede ser explicado por la localización intracelular de los micoplasmas en general, debido a la presión del antibiótico y una consecuente inhabilidad del agente de inducir respuesta inmune (Razin *et al*, 1998).

9. PREVENCIÓN Y CONTROL

9.1. Manejo

El principal objetivo de todos los criadores es erradicar el agente de sus lotes. Una enfermedad bacteriana transmitida por el huevo, puede ser erradicada al destruir todos los microorganismos presentes en el huevo, obteniendo así una progenie libre (McCapes *et al*, 1977).

Estudios experimentales demuestran que la inyección de gentamicina y tilosina por el borde inferior de huevos infectados, reduce significativamente el porcentaje de transmisión vertical al obtener progenie libre de *M. meleagridis* proveniente de dichos huevos (McCapes *et al*, 1975; McCapes *et al*, 1977; Ghazikhanian *et al*, 1980a).

Otro método utilizado hasta inicios de los años 80, consistió en sumergir los huevos fértiles en una solución de antibiótico, ya sea tilosina o gentamicina con un desinfectante como el amonio cuaternario. Actualmente esta práctica sólo se utiliza cuando los avicultores se enfrentan a un posible brote de *M. meleagridis*, debido a que el uso de estos antibióticos genera resistencia (Chin *et al*, 2003).

Estudios posteriores indican que la combinación de los métodos de inyección de gentamicina y tilosina y el método de inmersión en una solución de gentamicina y

amonio cuaternario es más efectiva que el método de inyección por si sólo al momento de eliminar *M. meleagridis* (Ghazikhanian *et al*, 1980b).

Por otro lado, se han hecho diferentes ensayos con antibióticos para eliminar a *M. meleagridis* del semen, resultando en una reducción de la viabilidad de los espermatozoides (Whiteman y Bickford, 1996).

9.2. Vacunación

No existen vacunas disponibles para la prevención de la infección causada por *M. meleagridis* (Chin *et al*, 2003). La inmunización de hembras reproductoras con *M. meleagridis* viable no produjo inmunidad, por el contrario el grado de infección se incrementó y no se detuvo la transmisión vertical (Vlaovic y Bigland, 1971).

9.3. Erradicación

Existen principios básicos que deben ser aplicados para producir lotes libres de *M. meleagridis* (Chin *et al*, 2003):

- Reducción de la infección genital a niveles mínimos mediante serología y cultivo. Se debe evitar usar machos que son portadores. Los machos cuyos tres cultivos consecutivos de semen son negativos, son usualmente libres de infección.
- Tratamiento de huevos con antibióticos efectivos mediante inmersión o inyección.
- Uso de nacedoras libres de *M. meleagridis*. Mantener estrictos niveles de bioseguridad debido a su forma de transmisión.
- Monitoreos serológicos frecuentes de los lotes tratados desde la semana 16 de vida y luego a intervalos periódicos.

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Lugar de Estudio

El presente estudio se realizó en las instalaciones del Laboratorio de Patología Aviar de la Facultad de Medicina Veterinaria de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos (FMV-UNMSM).

3.2. Tamaño muestral

Para determinar el tamaño muestral, se utilizó la fórmula de determinación del tamaño de la muestra para la estimación de proporciones (Daniel, 1996):

$$N = \frac{z^2 pq}{d^2}$$

Donde:

N = Número de muestras mínimas

Z = 1.96 (nivel de confianza de 95%)

p = prevalencia referencial (se usa 0.5 al no haber trabajos previos en el país)

q = 1-p

d = p/10 (nivel de confianza)

3.3. Población animal

Se utilizaron 400 muestras de sangre pertenecientes a 20 lotes de pavos reproductores mayores a 8 semanas, entre machos y hembras, provenientes del Departamento de Lima durante el año 2007. El muestreo fue realizado al azar. Las edades de los lotes fueron las siguientes:

Nº Lote	Edad de las aves (sem)	Procedencia
A	26 sem.	Asia
B	27 sem.	Asia
C	30 sem.	Asia
D	31 sem.	Asia
E	20 sem.	Asia
F	9 sem.	Asia
G	9 sem.	Asia
H	9 sem.	Asia
I	9 sem.	Asia
J	8.5 sem.	Chilca
K	8.5 sem.	Chilca
L	10 sem.	Chilca
M	10 sem.	Chilca
N	10 sem.	Chilca
Ñ	10 sem.	Chilca
O	55.5 sem.	Asia
P	44.5 sem.	Asia
Q	56.5 sem.	Asia
R	36 sem.	Asia
S	36 sem.	Asia

3.4. Materiales y Equipos

3.4.1. Materiales para la toma de muestras

- Algodón
- Alcohol
- Aguja descartable Nro. 18

- Viales estériles de vidrio con tapa
- Caja térmica
- Refrigerante
- Microviales

3.4.2. Materiales de Laboratorio

1. Kit de ELISA para la detección de anticuerpos contra *Mycoplasma meleagridis* (FlockCheck) de los laboratorios IDEXX®, conteniendo el siguiente material y reactivos:

- 4 Placas recubiertas con antígeno Mm
- Control positivo Mm – Anti Mm de pavo diluido. Conservado con azida de sodio.
- Conjugado negativo – Suero diluido, no reactivo al anti-Mm. Conservado con azida de sodio.
- Conjugado (de cabra) anti-pavos; peroxidasa de rábano. Conservado con gentamicina.
- Diluyente para la muestra Tampón. Conservado con azida de sodio.
- TMB sustrato.
- Solución de interrupción.

2. Instrumentos y Equipos:

- Pipetas de alta precisión (50-200ul).
- Pipetas de 1 ml. y 5 ml.
- Pipetas de 8 ó 12 canales.
- 2 cilindros graduables de 50 ml.
- Agua destilada.
- Lector de ELISA conectado a una computadora.
- Plato de Lavado.
- Tips estériles de plástico.

3.5. Colección de las muestras

Las muestras fueron obtenidas mediante punción de la vena alar o radial utilizando agujas descartables Nro. 18. De cada animal se extrajeron aproximadamente 2cc. de sangre colectada en frascos estériles de vidrio con tapa y sin anticoagulante, identificándose de la siguiente manera:

- Nombre y ubicación de la granja
- Procedencia
- Fecha de remisión
- Edad de las aves

Las muestras fueron colocadas en cajas térmicas con refrigerante y transportadas al Laboratorio de Patología Aviar de la FMV-UNMSM para su procesamiento y evaluación. Las muestras se mantuvieron en refrigeración durante 24 horas, en posición de plano inclinado para favorecer la separación del suero de los demás elementos sanguíneos. Una vez obtenido el suero, fue trasladado a microviales individuales y se procedió a su congelación hasta el día de su procesamiento.

3.6. Detección de Anticuerpos contra *M. meleagridis* por la prueba de ELISA

El procedimiento se describe a continuación:

1. Siguiendo las recomendaciones del Kit comercial se usó una dilución de 1:500, para lo cual se mezcló 1 uL de la muestra con 500 uL de diluyente o solución buffer.
2. Se extrajo 100uL de la solución preparada y se colocó en cada celdilla de la microplaca de ELISA.
3. Se colocó 100 uL de control positivo en las dos primeras celdillas y 100 uL de control negativo en las dos celdillas contiguas.
4. Se dejó reposar por 30 minutos.
5. Se procedió al lavado de la placa.
6. Se adicionó 100 uL del conjugado a cada celdilla.

7. Se dejó reposar por 30 minutos.
8. Se realizó un nuevo lavado de la placa.
9. Se adicionó 100 uL del sustrato a cada celdilla.
10. Se dejó reposar por 15 minutos.
11. Se adicionó 100 uL de la solución de interrupción.
12. Se procedió a la lectura en el espectrofotómetro.

3.7. Análisis estadístico de datos

3.7.1. Prevalencia de la prueba

La prevalencia se calculó según la siguiente fórmula:

$$P = \frac{\text{Nro de muestras positivas}}{\text{Nro de muestras totales}} \times 100$$

Donde:

P = Prevalencia

El resultado obtenido es se expresó mediante un intervalo de confianza de 95%.

$$IC = p \pm z \sqrt{pq/n}$$

Donde:

IC = Intervalo de confianza

p = prevalencia calculada

q = 1 - p

Z = 1.96

N = número de muestra positivas

IV. RESULTADOS

Los resultados de la prueba de ELISA para detectar anticuerpos contra *M. meleagridis* en 400 muestras de suero procedentes de 20 lotes de pavos reproductores mayores a 8 semanas de edad, colectados durante el año 2007, fueron los siguientes:

En 3 de 400 muestras se observó seroreacción a la prueba de ELISA, las cuales pertenecían a tres lotes diferentes. En las 397 muestras restantes que corresponden a 17 lotes, no hubo reacción serológica de anticuerpos, obteniéndose títulos cero (0).

La prevalencia para *M. meleagridis* fue de 0.75 %, con un intervalo de confianza de ± 0.042 . Además el porcentaje de positividad por lote fue de 5%.

Cuadro N° 1

Datos generales y Resultados de la Prueba de ELISA para detectar Anticuerpos a *M. meleagridis* en 400 muestras de suero de pavos reproductores

N° Lote	Edad de las aves (sem)	Resultado de la Prueba de ELISA	
		Positivos	Negativos
A	26 sem.	0	20
B	27 sem.	0	20
C	30 sem.	0	20
D	31 sem.	0	20
E	20 sem.	0	20
F	9 sem.	0	20
G	9 sem.	0	20
H	9 sem.	0	20
I	9 sem.	0	20
J	8.5 sem.	0	20
K	8.5 sem.	0	20
L	10 sem.	1	19
M	10 sem.	1	19
N	10 sem.	1	19
Ñ	10 sem.	0	20
O	55.5 sem.	0	20
P	44.5 sem.	0	20
Q	56.5 sem.	0	20
R	36 sem.	0	20
S	36 sem.	0	20
Total		3	397

Cuadro N° 2

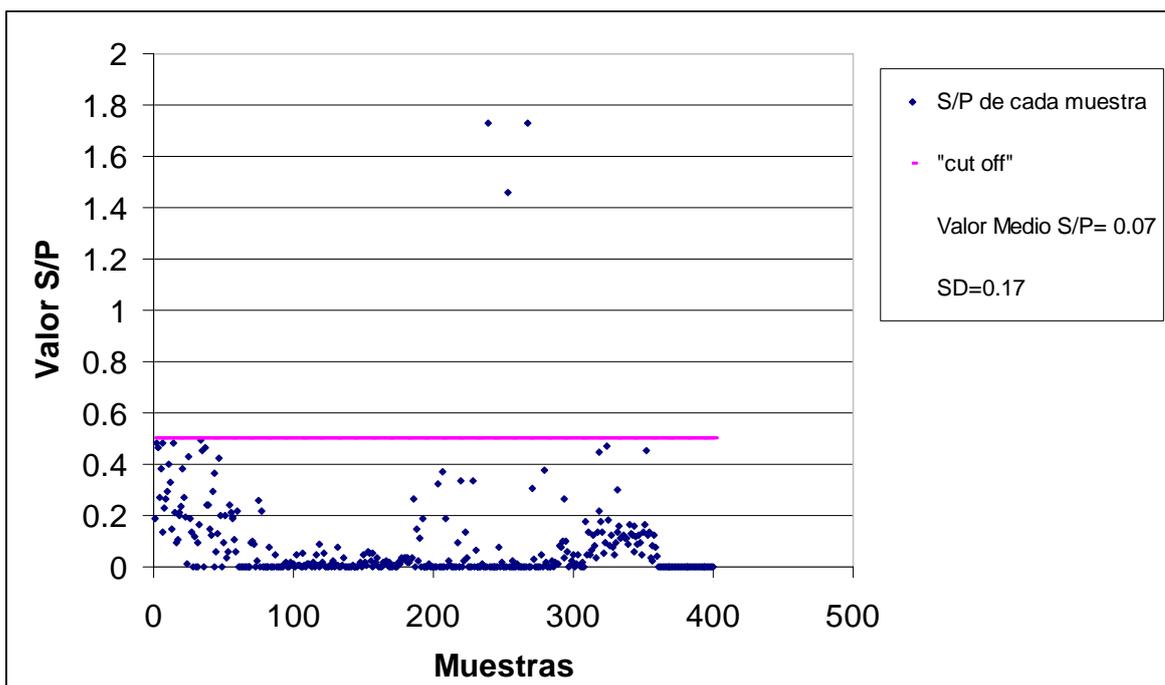
Densidades ópticas (O.D.), Cociente S/P y títulos de las tres muestras positivas obtenidas por la prueba de ELISA para detectar anticuerpos contra *M. meleagridis* en sueros de pavos reproductores.

Identificación	O.D.	S/P*	Títulos	
Control Negativo	0.076	-	-	
Control Negativo	0.078	-	-	
Control Positivo	0.309	-	-	
Control Positivo	0.325	-	-	
Lote L	1/20	0.492	1.729	4161
Lote M	1/20	0.427	1.458	3455
Lote N	1/20	0.492	1.729	4161

*S/P (muestra positiva)= Mayor a 0.5

Cuadro Nro. 3

Dispersión de los cocientes S/P obtenidas mediante la prueba de ELISA para detectar anticuerpos contra *M. meleagridis* en sueros de pavos reproductores.



V. DISCUSIÓN

Los resultados de la prueba de ELISA para detectar anticuerpos contra *M. meleagridis* en 400 muestras de suero colectadas de pavos reproductores del Departamento de Lima, mayores a 8 semanas de edad, durante el año 2007, mostraron que sólo tres muestras seroconvirtieron y en bajo porcentaje, obteniéndose una muestra positiva por cada lote (L, M y N), arrojando una prevalencia de 0.75%. Las muestras de los 17 lotes restantes fueron negativas.

En el caso de lotes de pavos expuestos a *M. meleagridis*, generalmente se observa un alto porcentaje de seroreacción, entre 80 a 100% (Kleven, S.H., comunicación personal). De acuerdo a su forma de transmisión, *M. meleagridis* es considerado como un microorganismo muy contagioso y de fácil diseminación (Chin *et al*, 2003) y puede transmitirse horizontalmente a cualquier edad, es por ello que de estar presente en los lotes, se encontraría un alto porcentaje de animales positivos, contrariamente a lo encontrado en este estudio, donde el porcentaje de seroreacción por lote fue de 5%. Un factor importante a considerar es la edad de los lotes que resultaron positivos a la prueba de ELISA. Estos lotes tuvieron 10 semanas al momento del muestreo y según los datos de sintomatología clínica de la enfermedad, la aerosaculitis es un signo evidente en pavos infectados verticalmente y se puede encontrar hasta las 15 o 16 semanas de vida en un lote, así como una poca ganancia de peso, signos no observados en los lotes positivos. Dichos lotes no mostraron ninguna sintomatología clínica compatible a la

enfermedad ni tampoco problemas productivos al momento de realizar el muestreo ni durante la campaña.

Asimismo, se han reportado reacciones cruzadas entre *M. meleagridis* y *M. synoviae* y *M. meleagridis* y *M. gallisepticum* mediante la prueba de Western Blot (Abdelmoumen y Roy, 1995b), por lo que no quedaría descartada una reacción cruzada entre estos agentes al momento de considerar el diagnóstico definitivo de los tres lotes en cuestión. Sin embargo, todos los lotes de pavos reproductores son sometidos a pruebas serológicas de *M. gallisepticum* y *M. synoviae* antes de su importación al país, teniendo que ser negativos para ambos agentes. En caso de ser positivos a *M. meleagridis*, podría observarse algún resultado positivo al realizar estas pruebas serológicas debido a las reacciones cruzadas anteriormente mencionadas. El programa sanitario en la integración donde se desarrolló este estudio, incluye monitoreos de *M. gallisepticum* y *M. synoviae* cada 10 semanas, siendo siempre negativos. Otro factor importante es el alto nivel de bioseguridad en los planteles estudiados, incluyendo el aislamiento de estas instalaciones, disminuyendo el riesgo sanitario a un nivel mínimo.

Por todo lo anteriormente expuesto, estas reacciones podrían calificarse como falso positivas, y no se condenaría a dichos lotes como positivos a *M. meleagridis*, si se tiene en cuenta también que la prueba de ELISA es altamente sensible y la especificidad no alcanza el 100% y presenta márgenes de error, razón por la cual no se le considera una prueba definitiva. En el cuadro 3, se puede observar cómo se encontraron distribuidos los valores S/P de la población muestreada. La media S/P fue de 0.07, con una desviación estándar de 0.17, lo que indica que están bastante alejadas del punto de corte de la prueba (0.5). No obstante, se considera que el kit de ELISA indirecto usado para la evaluación, tiene una sensibilidad de 96.6% cuando se le comparó con HI y una especificidad de 99.8% (Idexx Laboratories, 2004). Por otro lado, el *National Poultry Improvement Plan* de los Estados Unidos (NPIP, 2007), determina que la prueba de ELISA sólo puede ser usada como prueba suplementaria a la seroaglutinación en placa (SPA), la prueba de aglutinación en tubo o la prueba de microaglutinación a fin de determinar el estatus de un lote para el descarte de micoplasmas, mas no como una prueba confirmatoria. De todas las pruebas que existen para realizar estudios serológicos, el Test de ELISA es una herramienta de fácil utilización y menor costo, por

lo que generalmente se emplea para el monitoreo de lotes. En todo caso, la prueba de ELISA es una prueba tamiz y para un diagnóstico definitivo, se puede recurrir a pruebas confirmatorias como HI y PCR (Cerdá, 2007), ya que es posible que estos lotes hayan sido recientemente infectados y estaban en proceso de seroconversión al momento de la prueba. Esta posibilidad no podría descartarse a pesar de ser poco factible.

Actualmente en los EEUU, el país con mayor producción de carne de pavo a nivel mundial, se ha encontrado una prevalencia de 7.3 % en el año 2000 (Chin *et al*, 2003), situación que mejora para el año 2007, encontrándose sólo 2 granjas de reproductores positivas de un total de 611 granjas (0.33%) (Rhorer, A., comunicación personal), gracias a las labores de erradicación del NPIP. En el Perú se producen alrededor de 22 mil toneladas de carne de pavo al año, con un crecimiento anual del 12%, siendo el consumo per cápita de 0.8 kilogramos por habitante, lo que representa un crecimiento del 33% comparado con años anteriores. Además, el sector avícola exportó US\$ 2.5 millones en el año 2006, habiéndose reportado un crecimiento promedio anual de 65% en los últimos años. A nivel de partidas, la carne de pavo fue la principal, representando el 70.7% del total destinándose principalmente a Ecuador (52.6%) y Colombia (47.4%), tal como lo menciona Centrum (2007) en su informe mensual. A pesar de este creciente aumento en la producción, exportación y consumo de carne de pavo a nivel nacional, en el Perú no existen datos previos sobre la prevalencia de *M. meleagridis*, tanto en plantales de reproductores como en los lotes de engorde y no se han reportado casos clínicos compatibles con la enfermedad, según el reporte casuístico Avícola del 2006 del Laboratorio de Patología Aviar de la FMV-UNMSM, importante centro de diagnóstico avícola del país. Por lo tanto, este es el primer estudio serológico realizado en nuestro país sobre este microorganismo.

M. meleagridis ha sido considerado como un microorganismo de distribución mundial y las pérdidas económicas debidas a la infección que causaba fueron muy grandes, ya sea por problemas de mortalidad embrionaria, aerosaculitis, baja incubabilidad, la pobre ganancia de peso y el decomiso de carcasas. Estas pérdidas bordearon los 9.4 millones de dólares en los Estados Unidos, incluyendo también la implementación de programas de erradicación (Carpenter *et al*, 1981). Por este motivo, es de vital importancia mantenernos como país libre ya que brotes de esta enfermedad,

pueden originar serias pérdidas económicas de los productores, tal como se menciona anteriormente. El Perú importa huevos fértiles de pavos reproductores y también exporta pavitos BB a países de la Comunidad Andina de Naciones (CAN), por lo que de ser positivos a *M. meleagridis*, también afectaría seriamente al sector exportación, ya que la CAN, mediante Resolución 347, indica entre otras cosas, que para el comercio de pavitos BB dentro de los países miembros de la CAN, los plantos de reproductores de donde éstos provienen, deben ser libres a *M. meleagridis*.

En este caso es recomendable realizar un nuevo monitoreo a los lotes positivos utilizando pruebas definitivas y más específicas como HI para confirmar su estado sanitario y garantizar que los lotes sean libres de *M. meleagridis*. En caso de ser positivos, se podría considerar el monitoreo a *M. meleagridis* como una prueba de rutina dentro de los programas sanitarios.

VI. CONCLUSIONES

En base a los resultados obtenidos en el presente trabajo se establecen las siguientes conclusiones:

1. La prevalencia de anticuerpos a *M. meleagridis* en pavos reproductores del Departamento de Lima fue de 0.75%, con un intervalo de confianza de ± 0.042 .
2. Diecisiete de los veinte lotes fueron negativos a la prueba, sugiriendo que dichas aves no estuvieron expuestas a *M. meleagridis*.
3. De total de muestras analizadas (400), tres aves, pertenecientes a tres de los veinte lotes de pavos reproductores examinados, fueron seroreactoras a la prueba de ELISA indirecta para detectar anticuerpos contra *M. meleagridis*.
4. El porcentaje de reacción positiva por cada lote fue de 5% (Lotes L, M y N), muy por debajo del esperado en lotes positivos a *M. meleagridis*, por lo que se puede interpretar que los veinte lotes examinados (400 muestras) mediante la prueba de ELISA para detectar anticuerpos a *M. meleagridis* no fueron expuestos al microorganismo.

VII. BIBLIOGRAFÍA

1. Abdelmoumen, B.B.; R.S. Roy. 1995a. An enzyme-linked immunosorbent assay for detection of avian mycoplasmas in culture. *Avian Dis.*, 39(1):85-93
2. Abdelmoumen, B.B.; R.S. Roy; 1995b. Antigenic relatedness between seven avian *Mycoplasma* species as revealed by western blot analysis. *Avian Dis.*, 39:250-262
3. Adler, H.E; J. Fabricant; R. Yamamoto; J. Berg. 1958. Symposium on chronic respiratory diseases of poultry. I. Isolation and Identificaton of pleuropneumonia-like organisms of avian origin. *American Journal of Veterinary Research* 19:440-447
4. Beard, C.W.; D.P. Anderson. 1967. Aerosol studies with avian *Mycoplasma*. I. Survival in the air. *Avian Dis.*, 11:54-59
5. Bigland, C.H. 1969. Natural Resolution of air sac lesions caused by *Mycoplasma meleagridis* in turkeys. *Can. J. Comp. Med.*, 33:169-172
6. Bigland, C.H. 1972. The tissue localization of *Mycoplasma meleagridis* in turkey embryos. *Can. J. Comp. Med.*, 36:99-102
7. Bigland, C.H. y M.L. Benson. 1968. *Mycoplasma meleagridis* ("N" Strain *Mycoplasma*-PPLO): Relationship of air sac lesions and isolations in day old turkeys (*Meleagridis gallopavo*). *Can. Vet. Jour.*, 9(6):138-141
8. Bigland, C.H.; M.W. Warenycia. 1978. Effects of biotin, folic acid and pantothenic acid on the growth of *Mycoplasma meleagridis*, a turkey pathogen. *Poult Sci.*, 57:611-618

9. Cardona, C.J.; A.A. Bickford. 1993. Wry neck associated with *Mycoplasma meleagridis* infection in a backyard flock of turkeys. *Avian Dis.*, 37:240-243
10. Carpenter, T. E.; R. K. Edson; R. Yamamoto. 1981. Decreased hatchability of turkeys eggs caused by experimental infection with *Mycoplasma meleagridis*. *Avian Dis.*, 25(1):151-156
11. Carpenter, T.E.; H.P. Riemann; C.E. Franti. 1982a. The effect of *Mycoplasma meleagridis* infection and egg dipping on the weight-gain performance of turkey poults. *Avian Dis.*, 26(2):272-278
12. Carpenter, T.E.; H.P. Riemann; R.H. McCapes. 1982b. The effect of experimental turkey embryo infection with *Mycoplasma meleagridis* on weight, weight gain, feed consumption, and conversion. *Avian Dis.*, 26(4):689-695
13. Cassell, G. H.; and M. R. Brown. 1983. Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) for detection of anti-mycoplasmal antibody. En: *Methods in mycoplasmaology*, Vol. I. Ed. Academic Press. New York. p. 457-469
14. Centrum al día, Boletín Electrónico de Negocios (on line). 3 de julio del 2007.
Disponible en:
[Http://www.centrum.pucp.edu.pe/CentrumAIDia/03072007/Centrumaldia_03072007.htm](http://www.centrum.pucp.edu.pe/CentrumAIDia/03072007/Centrumaldia_03072007.htm) (26/11/2007)
15. Cerdá, R.O. 2007. Medidas de Prevención y Control de la Micoplasmosis en Latinoamérica. Memorias del XX Congreso Latinoamericano de Avicultura, Porto Alegre, 25-28 de septiembre. P 111-124
16. Chin, R.P.; G. Y. Ghazikhanian, I. Kempf. 2003. *Mycoplasma meleagridis* infection. En: *Diseases of poultry, Section II, Bacterial diseases*. 11th ed. Calnek Ed. Iowa, USA. Iowa Univ. Press. p. 744-756
17. Clyde, W. A.. Jr. 1983. *Mycoplasma-animal-host interrelationships*. En: *Methods in mycoplasmaology*, Vol. I. Ed. Academic Press. New York. p 15-19
18. Daniel, W. 1996. *Bioestadística. Base para el análisis de las Ciencias de la Salud*. Ed. Limusa, 3^o Ed. México. p. 205-206
19. Dufour-Gesbert, F.; I. Kempf; M. Kobisch. 2001a. Development of a blocking enzyme-linked immunosorbent assay for detection of turkey antibodies to *Mycoplasma meleagridis*. *Vet. Microbiol.*, 78(3): 275-284

20. Dufour-Gesbert. F.; I. Kempf; F. De Simone; M. Kobisch. 2001b. Antigen heterogeneity and epitope variable expression in *Mycoplasma meleagridis* isolates. *Vet. Microbiol.*, 78(3):261-273
21. Elmahi, M.M.; R.F. Ross; M.S. Hofstad. 1982. Comparison of seven isolates of *Mycoplasma meleagridis*. *Vet. Microbiol.*, 7(1):61-76
22. Ferrier, W. T.; H. B. Ortmayer; F. X. Ogasawara; R. Yamamoto. 1982. The survivability of *Mycoplasma meleagridis* in frozen-thawed turkey semen. *Poultry Sci.*, 61(2):379-381
23. Fox, M.L.; C.H. Bigland. 1970. Differences between cull and normal turkeys in natural infection with *Mycoplasma meleagridis* at one day of age. *Can. J. Comp. Med.*, 34:285-288
24. Ghazikhanian G.Y.; R. Yamamoto; R.H. McCapes; W.M. Dungan; C.T. Larsen; H.B. Ortmayer. 1980a. Antibiotic egg injection to eliminate disease II. Elimination of *Mycoplasma meleagridis* from a strain of turkeys. *Avian Dis.*, 24(1):48-56
25. Ghazikhanian G.Y.; R. Yamamoto; R.H. McCapes; W.M. Dungan; H.B. Ortmayer. 1980b. Combination dip and injection of turkey eggs with antibiotics to eliminate *Mycoplasma meleagridis* infection from a primary breeding stock. *Avian Dis.*, 24(1):57-70
26. Green, F. I. and R. P. Hanson. 1973. Ultrastructure and capsule of *Mycoplasma meleagridis*. *J. Bacteriol.*, 116(2):1011-1018
27. Hagen, C.A.; S.S. Crupper; R.D. Applegate; R.J. Robel. 2002. Prevalence of *Mycoplasma* antibodies in lesser prairie-chicken sera. *Avian Dis.*, 46(3):708-712
28. Hamdy, A.H.; M.H. Saif; C.W. Kasson. 1982. Efficacy of lincomycin-spectinomycin water-medication on *Mycoplasma meleagridis* airsacculitis in commercially reared turkey poults. *Avian Dis.*, 26(2):227-233
29. Hollamby, S.; J.G. Sikarskie; J. Stuht. 2003. Survey of peafowl (*Pavo cristatus*) for potential pathogens at three Michigan Zoos. *Journal of Zoo and Wildlife Medicine*, 34(4):375-379
30. Ibrahim, A.A.; R. Yamamoto. 1977a. Arginine catabolism by *Mycoplasma meleagridis* and its role in pathogenesis. *Infect. Immun.*, 18(1):226-229

31. Ibrahim, A. A.; R. Yamamoto. 1977b. Morphology and growth cycle of *Mycoplasma meleagridis* viewed by scanning-electron microscopy. Avian Dis., 21(3): 415-421
32. Idexx Laboratories. 2004. Mycoplasma meleagridis Antibody Test Kit. Validation Data Report. p 1-6
33. Jordan, F. T. W. 1983. Recovery and identification of avian Mycoplasmas. En: Methods in mycoplasmaology, Vol. II, Diagnostic mycoplasmaology. Ed. Academic Press. New York. p. 69-79
34. Kleven, S.H. 2007. Profesor Emérito de la Universidad de Georgia. Comunicación personal. skleven@uga.edu
35. Kleven, S. H.; and B. S. Pomeroy. 1971a. Characterization of the antibody response of turkeys to *Mycoplasma meleagridis*. Avian Dis.,15(2):291-298
36. Kleven, S.H. and B. S. Pomeroy. 1971b. Role of the female in egg transmission of *Mycoplasma meleagridis* in turkeys. Avian Dis., 15(2):299-304
37. Kumar, M.C.; B.S. Pomeroy. 1969. Transmisión of *Mycoplasma meleagridis* in turkeys. Am J Vet Res., 30:1423-1436
38. Laboratorio de Patología Aviar de la Facultad de Medicina Veterinaria de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos (FMV-UNMSM). 2007. Reporte Casuístico Avícola 2006. Actualidad Avipecuaria, 1(2):36-37
39. Lam, K.M. 2004. Pathogenicity of *Mycoplasma meleagridis* for chicken cells. Avian Dis., 48(4)916-920
40. Lam, K.M.; A.J. DaMassa; G.Y. Ghazikhanian. 2003a. Infection of turkey embryonic trachea with *Mycoplasma meleagridis*. Avian Pathol., 32(3):289-293
41. Lam, K. M.; A. J. Da Massa; G. Y. Ghazikhanian. 2003b. Interactions between the membranes of turkey cells and *Mycoplasma meleagridis*. Avian Dis. 47:611-617
42. Lam, K.M.; A.J. DaMassa; G.Y. Ghazikhanian. 2004. *Mycoplasma meleagridis*-induced lesions in the tarsometatarsal joints of turkey embryos. Avian Dis., 48(3):505-511
43. Lierz, M.; R. Schmidt; L. Brunnberg; M. Runge. 2000. Isolation of *Mycoplasma meleagridis* from free-ranging birds of pray in Germany. J. Vet. Med. B., 47(1):63-67

44. McCapes, R.H.; R. Yamamoto; G. Ghazikhanian. 1977. Antibiotic egg injection to eliminate disease I. Effect of injection methods on turkey hatchability. *Avian Dis.*, 21(1):57-68
45. McCapes, R.H.; R. Yamamoto; H.B. Ortmayer. 1975. Injecting antibiotics into turkey hatching eggs to eliminate *Mycoplasma meleagridis* infection. *Avian Dis.*, 19(3):506-514
46. Matzer, N. and R. Yamamoto. 1970. Genital pathogenesis of *Mycoplasma meleagridis* in virgin turkey hens. *Avian Dis.*, 14(2):321-329
47. Nascimento, E.R.; V.L.A. Pereira; M.G.F. Nascimento; M.L. Barreto. 2005. Avian Mycoplasmosis update. *Rev. Bras. Cienc. Avic.*, 7(1):1-9
48. National Poultry Improvement Plan for Breeding Poultry. 2007. Electronic Code of Federal Regulations. Title 9: Animals and Animal Products. Part 145. (on line) Disponible en: <http://ecfr.gpoaccess.gov/cgi/t/text/text-idx?c=ecfr;sid=ce1148fbe6db83a7827c223e1fcc83e8;rgn=div5;view=text;node=9%3A1.0.1.7.61;idno=9;cc=ecfr#9:1.0.1.7.61.4.77.3> (21/08/2007).
49. Normativa Andina, Comunidad Andina de Naciones (CAN). Resolución 347: Norma Sanitaria Andina para el comercio intrasubregional de animales, productos y sub-productos de origen pecuario. 1993 (on line). Disponible en: <http://www.comunidadandina.org/normativa/res/R347.HTM> (26/11/2007).
50. Ortiz, A.M.; R. Yamamoto; A.A. Benedict; A.P. Mateos. 1981. The immunosuppressive effect of *Mycoplasma meleagridis* on nonreplicant antigens. *Avian Dis.*, 25(4):954-963
51. Razin, S. 1983. Characteristic of the *Mycoplasma* group. En: *Methods of Mycoplasmaology*, Vol. I. Ed. Academic Press. New York. p 3-7
52. Razin, S.; D. Yogeve; Y. Naot. 1998. Molecular Biology and Pathogenicity of *Mycoplasmas*. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.*, 62(4):1094-1156
53. Rhoades, K.R. 1969. Experimentally induced *Mycoplasma meleagridis* infection of turkey reproductive tracts. *Avian Dis.*, 13(3):508-519
54. Rhoades, K.R. 1971a. *Mycoplasma meleagridis* infection: Development of lesions and distribution of infection in turkey embryos. *Avian Dis.*, 15(4):762-774
55. Rhoades, K.R. 1971b. *Mycoplasma meleagridis* infection: Reproductive tract lesions in mature turkeys. *Avian Dis.*, 15(4):722-729

56. Rhoades, K.R. 1977. Turkey Sinusitis: Synergism between *Mycoplasma synoviae* and *Mycoplasma meleagridis*. Avian Dis., 21(4):670-674
57. Rhoades, K.R. 1981. Turkey airsacculitis: Effect of a mixed Mycoplasma Infections. Avian Dis., 25(1)131-135
58. Rhorer. A. 2007. Coordinador Senior del National Poultry Improvement Plan (NPIP) de Estados Unidos. Comunicación Personal. Andrew.R.Rhorer@aphis.usda.gov
59. Rott, M.; H. Pfützner; H. Gigas; B. Mach. 1989. The frequency of detection of *Mycoplasma meleagridis* in breeding turkeys depending on the laying age. Arch. Exp. Veterinarmed., 43(5):737-741
60. Talkington, F. D.; S. H. Kleven; J. Brown. 1985. An enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of antibodies to *Mycoplasma gallisepticum* in experimental infected chickens. Avian. Dis. 29(1):53-70
61. Vlaovic, M.S.; Bigland, C.H. 1971. The attempted immunization of turkey hens with viable *Mycoplasma meleagridis*. Can. J. Comp. Med., 35:338-341
62. Whiteman and Bickford. 1996. Avian diseases manual. American association of avian pathologist. P. 119-121
63. Yamamoto, R. 1967. Localization and egg transmission of *Mycoplasma meleagridis* in turkeys exposed by various routes. Ann. NY. Acad. Sci., 143:225-233
64. Yamamoto, R. 1995. Diagnóstico de micoplasmosis aviar. En: Memorias del IV Congreso de avicultura. Arequipa. p. 35-39
65. Yamamoto, R.; C.H. Bigland. 1964. Serological evidence that "N" *Mycoplasma* causes an airsacculitis in turkeys. Bact Proc., M22
66. Yamamoto, R.; C. H. Bigland; H. B. Ortmayer. 1965. Characteristics of *Mycoplasma meleagridis* sp. n., isolated from turkeys. J. Bacteriol., 90:47-49
67. Yamamoto, R.; C.H. Bigland; I.L. Peterson. 1966. Egg Transmission of *Mycoplasma meleagridis*. Poult Sci., 45:1245-1257
68. Yamamoto, R.; F.H. Kratzer; H.B. Ortmayer. 1974. Recent Research on *Mycoplasma meleagridis*. 23rd West Poult Dis Conf and 8th Poult Health Symp, p 53-54
69. Yamamoto, R.; H.B. Ortmayer. 1967. Hatchery and Intraflock transmission of *Mycoplasma meleagridis*. Avian Dis., 11:288-295

70. Yoder, H.W. Jr; M.S. Hofstad. 1964. Characterization of avian mycoplasma.
Avian Dis., 8:481-512