



ESTRATEGIAS DE VACUNACIÓN FRENTE *MYCOPLASMA HYOPNEUMONIAE* EN LECHONES Y CERDAS ADULTAS, Y EFECTOS SOBRE LAS LESIONES PULMONARES

Autor: Dominiek Maes



Dominiek Maes recibió su título de veterinario de la Universidad de Ghent, Bélgica, en 1993, una maestría en Producción Animal de la misma universidad en 1995, una maestría en Salud del Rebaño y Epidemiología Veterinaria de la Universidad de Utrecht en 1998, y un doctorado de la Universidad de Ghent en 1998. Fue investigador postdoctoral en la Facultad de Medicina Veterinaria de la Universidad de Minnesota en 2000. Se convirtió en Profesor Asociado de Gestión de la Salud Porcina en la Facultad de Medicina Veterinaria de la Universidad de Ghent en 2003, y es profesor titular en la misma desde 2012. Actualmente es director del Instituto de Desarrollo Profesional Continuo dentro de la Facultad de Medicina Veterinaria de la Universidad de Ghent, editor de la sección de Ciencias Ganaderas, presidente de la rama belga de la Sociedad Internacional de Veterinaria porcina, ex presidente del Colegio Europeo de Porcine Health Management y miembro de la junta de Educación Continua Veterinaria en Europa (VetCEE). Se desempeñó como vicepresidente de EBVS de 2013 a 2015 y fue elegido presidente de EBVS en abril de 2015. Tiene más de 220 publicaciones en revistas científicas internacionales revisadas por pares y más de 400 presentaciones durante conferencias nacionales e internacionales.

El control de las infecciones por *M. hyopneumoniae* en granjas de cerdos se puede lograr optimizando las prácticas de gestión y bioseguridad y las condiciones de alojamiento (Maes et al., 2008). Sin embargo, estas medidas podrían no proporcionar siempre las mejoras deseadas y/o podría ser difícil implementar cambios debido a las limitaciones financieras, logísticas y prácticas. En ese caso, **la vacunación frente *M. hyopneumoniae* es una herramienta muy útil para controlar las infecciones por *M. hyopneumoniae*. En granjas infectadas, la vacunación mejora la salud y el rendimiento de los animales, y reduce el uso de antimicrobianos.** La vacunación se practica con frecuencia en todo el mundo y se dispone de diferentes vacunas frente *M. hyopneumoniae*. Las vacunas comerciales son principalmente vacunas bacterianas autorizadas para la vacunación única o doble en lechones. Algunas vacunas también están autorizadas para su uso en animales de reproducción. La mayoría de las vacunas bacterianas deben administrarse por vía intramuscular, pero algunas de ellas están autorizadas para su administración intradérmica (Maes et al., 2020).

Efectos de la vacunación

La ventaja de la vacunación de lechones es una disminución de las pérdidas de rendimiento debidas a las infecciones por *M. hyopneumoniae*: mejora de la ganancia media diaria (GMD) (2-8 %), la tasa de conversión de pienso (2-5 %) y, en ocasiones, la tasa de mortalidad (Del Pozo Sacristán, 2014).

Además, se observa menor tiempo hasta alcanzar el peso para el sacrificio, menor variación en el peso para el sacrificio (canales más homogéneas), reducción de los signos clínicos (tos), menor prevalencia y gravedad de las lesiones pulmonares de tipo *Mycoplasma* y menores costes de tratamiento (Maes *et al.*, 1998, 1999; Jensen *et al.*, 2002).

Aunque las infecciones por *M. hyopneumoniae* no causan lesiones de pleuritis, se ha demostrado que las infecciones contraídas de forma temprana durante la cría de cerdos de engorde predisponen a la pleuritis registrada en el sacrificio (Holmgren *et al.*, 1999). En consecuencia, los estudios mostraron que la vacunación frente *M. hyopneumoniae* puede provocar una disminución de la pleuritis en cerdos de sacrificio (Maes *et al.*, 1999; del Pozo *et al.*, 2014), probablemente debido a un menor número de infecciones bacterianas secundarias como las de *Pasteurella multocida* y/o *Actinobacillus pleuropneumoniae* (Marois *et al.*, 2009).



Las vacunas utilizadas actualmente también reducen el número de organismos de *M. hyopneumoniae* en las vías respiratorias (Meyns *et al.*, 2006; Vranckx *et al.*, 2012) y reducen el nivel de infección en una granja (Sibila *et al.*, 2007).

Sin embargo, la protección frente los signos clínicos y las lesiones pulmonares de tipo *Mycoplasma* a menudo es incompleta y la vacunación no impide la colonización. Los modelos de transmisión en condiciones experimentales (Meyns *et al.*, 2006) y de campo (Pieters *et al.*, 2010; Villarreal *et al.*, 2011) mostraron que la vacunación solo aportaba una reducción limitada y no significativa del índice de transmisión de *M. hyopneumoniae*. Por lo tanto, estos autores concluyeron que la vacunación como única medida de control no va a eliminar *M. hyopneumoniae* de las granjas de cerdos infectadas. Los efectos de la vacunación también pueden variar entre granjas. Esto puede deberse al incumplimiento de los principios básicos de las buenas prácticas de vacunación, *p. ej.* las condiciones de conservación y administración de la vacuna inadecuadas, una mala higiene en el momento de la vacunación y no seguir las directrices mencionadas en el prospecto.

Sin embargo, también otros factores como el estrés en el momento de la vacunación, las infecciones con otros patógenos en el momento de la vacunación, las infecciones concomitantes implicadas en el complejo respiratorio porcino (CRP), la diversidad de cepas de *M. hyopneumoniae* y la inmunidad materna podrían influir en la eficacia de la vacunación (Maes *et al.*, 2020).

Estrategias de vacunación

En granjas sin *M. hyopneumoniae* o con niveles de infección muy bajos, es posible que no se recomiende la vacunación ya que, en estas condiciones, los beneficios de la vacunación pueden no superar los costes. En otras granjas, se han adoptado diferentes estrategias de vacunación, dependiendo del tipo de granja, el sistema de producción y las prácticas de gestión, el patrón de infección y las preferencias del productor porcino.

Vacunación de lechones

Dado que las infecciones por *M. hyopneumoniae* pueden producirse ya durante las primeras semanas de vida (Villarreal *et al.*, 2010), la vacunación de lechones es la estrategia de vacunación más frecuente.

Su eficacia se ha demostrado en numerosos estudios experimentales y de campo (Jensen *et al.*, 2002). La vacunación de lechones lactantes (vacunación temprana; <4 semanas de edad) es la más frecuente, especialmente en granjas de un solo sitio, mientras que a veces se practica la vacunación de lechones de transición/de engorde temprano (vacunación tardía; entre 4 y 10 semanas), especialmente en sistemas de tres sitios en los que las infecciones tardías son más frecuentes. Originalmente, la vacunación doble era la práctica más frecuente.

En la actualidad, la vacunación de una dosis se utiliza con más frecuencia, principalmente porque requiere menos trabajo y se puede implementar con mayor facilidad en las prácticas de gestión rutinaria de la granja (Baccaro *et al.*, 2006).

Con las vacunas de una dosis, la habilidad del productor porcino o del empleado para vacunar adecuadamente podría ser más crucial para cumplir con la vacunación, ya que solo se administra una inyección. La vacunación única a los 7 o 21 días de edad fue eficaz (rendimiento, lesiones pulmonares) en una granja de cerdos con enfermedad respiratoria clínica durante la segunda mitad del periodo de engorde (Del Pozo Sacristán *et al.*, 2014). Los estudios experimentales (Arsenakis *et al.*, 2016) y de campo (Arsenakis *et al.*, 2017) han demostrado que la vacunación de lechones tres días antes del destete aporta resultados ligeramente mejores (rendimiento, lesiones pulmonares) que la vacunación en el destete. Del Pozo Sacristán (2014) ha publicado una descripción general del efecto de la vacunación de lechones obtenida a partir de distintos estudios sobre lesiones pulmonares y otros parámetros.

Se obtuvieron reducciones de entre el 5 % y más del 50 % en la prevalencia de las lesiones de neumonía, junto con una reducción significativa en la gravedad de las lesiones. Un metaanálisis, basado en 63 estudios de vacunación contra *M. hyopneumoniae*, mostró que los animales vacunados tenían de media 22 gramos más de GMD que los animales no vacunados (Jensen *et al.*, 2002).

Como regla general, la vacunación debe administrarse antes de que los animales se infecten. La vacunación de lechones lactantes tiene la ventaja de que la inmunidad puede inducirse antes de que los cerdos se infecten con *M. hyopneumoniae* y de que hay menos infecciones con otros patógenos que puedan interferir con la respuesta inmunitaria.

Los cerdos de transición tienen un menor nivel de inmunidad materna, pero pueden estar ya infectados con *M. hyopneumoniae* (Villarreal *et al.*, 2010).



Además, la ventana de edad en la que los lechones se infectan puede variar entre grupos sucesivos dentro de una piara (Sibila *et al.*, 2004). Las estrategias de vacunación adaptadas a patrones de infección específicos de la granja p. ej., la vacunación de lechones al menos dos semanas antes de la seroconversión, han tenido éxito en la reducción del impacto de la infección por *M. hyopneumoniae* (Wallgren *et al.*, 2000). Algunas infecciones patógenas p. ej. con el virus del síndrome reproductivo y respiratorio porcino (porcine reproductive and respiratory syndrome virus, PRRSV), el circovirus porcino tipo 2 (porcine circovirus type 2, PCV-2) o *S. suis* se producen principalmente después del destete y pueden afectar al estado de salud general de los cerdos y, en consecuencia, interferir con las respuestas inmunitarias adecuadas después de la vacunación. Además, en el caso de la administración intramuscular, puede tener lugar la transmisión iatrogénica de estos patógenos durante la vacunación.

Vacunación de cerdas jóvenes de reproducción

La vacunación de cerdas jóvenes de reproducción durante la aclimatación o la cuarentena es una práctica frecuente (Garza-Moreno *et al.*, 2018). Se recomienda la vacunación en caso de que cerdas jóvenes negativas o cerdas jóvenes con estado de infección desconocido que entren en una granja infectada con *M. hyopneumoniae*.

El objetivo es estimular y homogeneizar la inmunidad de la población de cerdas jóvenes de reemplazo y evitar la desestabilización de la inmunidad de los reproductores.

La vacunación de las cerdas jóvenes dos veces (a las 2 y 6 semanas después de la entrada) en la unidad de aclimatación de las cerdas jóvenes redujo significativamente.

La proporción de cerdas jóvenes positivas en la PCR a las 14 semanas después de la entrada en una granja clínicamente infectada con *M. hyopneumoniae* (Garza-Moreno *et al.*, 2019). La vacunación también aumentó los niveles de anticuerpos de las cerdas jóvenes y su descendencia. Aunque la vacunación no proporcionó una protección completa, el nivel de infección dentro de la población de cerdas jóvenes de la granja estudiada se redujo significativamente en comparación con un grupo de cerdas jóvenes que no estaba vacunada.

Vacunación de cerdas adultas

La vacunación de cerdas adultas al final de la gestación es una práctica menos frecuente.

Pretendía tanto reducir la propagación de *M. hyopneumoniae* de la cerda adulta a su descendencia como conferir protección a los lechones a través de la inmunidad derivada de la madre.

Wallgren *et al.* (1998) mostraron que los anticuerpos séricos en la cerda adulta comienzan a disminuir durante el último mes de gestación y, por lo tanto, los autores recomendaron vacunar a las cerdas adultas al menos cuatro semanas antes del parto previsto.

La inmunidad derivada de la madre en lechones proporciona una protección parcial frente a la infección por *M. hyopneumoniae* y reduce la gravedad de los signos clínicos y las lesiones pulmonares de tipo *Mycoplasma* tras la infección por desafío de lechones. Los títulos iniciales de anticuerpos en lechones recién nacidos dependen del estado inmunitario de la cerda adulta y de la cantidad de calostro ingerido por los lechones (Wallgren *et al.*, 1998). Dado que la inmunidad derivada de la madre disminuye con la edad de los lechones, también la protección puede disminuir con la edad.

Los estudios de campo han mostrado que la vacunación de cerdas adultas al final de la gestación da lugar a un menor número de lechones colonizados por *M. hyopneumoniae* en el destete y poco después, tanto en operaciones de ciclo cerrado (Arsenakis *et al.*, 2019) como en sistemas de producción en múltiples sitios (Ruiz *et al.*, 2003; Sibila *et al.*, 2008).

Además, se demostró que los cerdos de cerdas adultas vacunadas también presentaban un menor número de lesiones pulmonares de tipo *Mycoplasma* en el momento del sacrificio, en comparación con los cerdos de cerdas adultas no vacunadas (Arsenakis *et al.*, 2019).

Dado que los lechones de cerdas adultas vacunadas todavía se pueden infectar, pueden estar justificadas las medidas adicionales para controlar *M. hyopneumoniae* durante las fases de transición y acabado. En granjas con altos niveles de infecciones por *M. hyopneumoniae* o en caso de síntomas clínicos en la población de cerdas adultas, se puede practicar la vacunación de todos los animales de reproducción al mismo tiempo con el fin de estabilizar y homogeneizar la inmunidad de las reproductoras.

Vías de administración

La inyección intramuscular es la vía de administración más utilizada de la vacunación contra *M. hyopneumoniae*. La vacunación intradérmica también es posible con algunas vacunas. Esta vía de administración actúa directamente sobre las células epidérmicas de Langerhans y las células dendríticas de la piel, que son fundamentales para un cebado eficaz de los linfocitos T y B.

En este sentido, la vacunación intradérmica contra *M. hyopneumoniae* puede ser un activo, ya que hay más de estas células presentadoras de antígenos especializadas en la piel que en el tejido muscular (Fu *et al.*, 1997).

Además, no se utilizan agujas, ya que la vacuna se administra por vía intradérmica mediante presión, lo que puede reducir el riesgo de infecciones iatrogénicas. La mayor dispersión del antígeno en el lugar de la inyección también puede reducir las reacciones en el lugar de la inyección (Del Pozo Sacristán, 2014).

Beffort *et al.* (2017) observaron menos reacciones en el lugar de la inyección y una mejor eficacia de la vacunación intradérmica en comparación con la vacunación intramuscular en lo que se refiere a la reducción de los signos clínicos y las lesiones pulmonares macroscópicas de tipo *Mycoplasma*.

Martelli *et al.* (2014) mostraron que la vacunación intradérmica con una vacuna bacteriana inducía una respuesta inmunitaria sistémica humoral y mediada por células, así como inmunidad humoral local, que eran comparables a las que se obtenían mediante la administración intramuscular de una vacuna bacteriana. También se han obtenido buenos resultados (rendimiento, lesiones pulmonares) con la vacunación intradérmica contra *M. hyopneumoniae* en otros estudios (Jones *et al.*, 2005; Ferrari *et al.*, 2011; Tassis *et al.*, 2012).

Conclusiones:

- 1 La vacunación frente *M. hyopneumoniae* es una herramienta muy útil para controlar las infecciones por *M. hyopneumoniae*. En granjas infectadas, la vacunación mejora la salud y el rendimiento de los animales, y reduce el uso de antimicrobianos.
- 2 Factores como el estrés en el momento de la vacunación, las infecciones con otros patógenos en el momento de la vacunación, las infecciones concomitantes implicadas en el complejo respiratorio porcino (CRP), la diversidad de cepas de *M. hyopneumoniae* y la inmunidad materna podrían influir en la eficacia de la vacunación.
- 3 La vacunación de una dosis se utiliza con más frecuencia, principalmente porque requiere menos trabajo y se puede implementar con mayor facilidad en las prácticas de gestión rutinaria de la granja.
- 4 La vacunación intradérmica contra *M. hyopneumoniae* puede ser un activo, ya que hay más de estas células presentadoras de antígenos especializadas en la piel que en el tejido muscular. Y además, una mejor eficacia de la vacunación intradérmica en comparación con la vacunación intramuscular en lo que se refiere a la reducción de los signos clínicos y las lesiones pulmonares macroscópicas de tipo *Mycoplasma*.

1. Arsenakis, I., Michiels, A., del Pozo Sacristán, R., Boyen, F., Haesebrouck, F., & Maes, D. (2017). *Mycoplasma hyopneumoniae* vaccination at or shortly before weaning under field conditions: a randomised efficacy trial. *Veterinary Record*, 181, 19.

2. Arsenakis, I., Michiels, A., Schagemann, G., Duran, O., Boyen, F., Haesebrouck, F., & Maes D. (2019). Effects of pre-farrowing sow vaccination against *Mycoplasma hyopneumoniae* on offspring and lung lesions. *Veterinary Record*, 184(7), 222.

3. Arsenakis, I., Panzavolta, L., Michiels, A., Del Pozo Sacristan, R., Boyen, F., Haesebrouck, F., Maes, D. (2016). Efficacy of *Mycoplasma hyopneumoniae* vaccination before and after weaning against experimental challenge infection in pigs. *BMC Veterinary Research*, 12, 63, DOI: 10.1186/s12917-016-0685-9.

4. Baccaro, M.R., Hirose, F., Umehara, O., Gonçalves, L.C.B., Doto, D.S., Paixão, R., Shinya, L.T., & Moreno, A.M. (2006). Comparative efficacy of two single-dose bacterins in the control of *Mycoplasma hyopneumoniae* in swine raised under commercial conditions in Brazil. *Brazilian Veterinary Journal*, 172, 526-531.

5. Beffort, L., Weiss, C., Fiebig, K., Jolie, R., Ritzmann, M. & Eddicks M. (2017). Field study on the safety and efficacy of intradermal versus intramuscular vaccination against *Mycoplasma hyopneumoniae*. *Veterinary Record*, 181, 348.

6. Del Pozo Sacristan, R. (2014). Treatment and control of *Mycoplasma hyopneumoniae* infections. In: *PhD thesis, Ghent University Belgium*, pp. 189.

7. Del Pozo Sacristan, R., Sierens, A., Marchioro, S., Vangroenweghe, F., Jourquin, J., Labarque, G., Haesebrouck, F. & Maes D. (2014). Efficacy of early *Mycoplasma hyopneumoniae* vaccination against mixed respiratory disease in older fattening pigs. *Veterinary Record*, 174, 197.

8. Ferrari, L., Borghetti, P., Gozio, S., De Angelis, E., Ballotta, L., Smeets, J., Blanchaert, A. & Martelli, P. (2011). Evaluation of the immune response induced by intradermal vaccination by using a needle-less system in comparison with the intramuscular route in conventional pigs. *Research in Veterinary Science*, 90, 64-71.

9. Fu, T., Ulmer, J.B., Caufield, M.J., Deck, R.R., Friedman, A., Wang, S., Liu, X., Donnelly, J.J. & Liu, M.A. (1997). Priming of cytotoxic T lymphocytes by DNA vaccines. Requirement for professional antigen presenting cells and evidences for antigen transfer from myocytes. *Molecular Medicine*, 3, 362-371.

10. Garza-Moreno, L., Pieters, M., López-Soria, S., Carmona, M., Krejci R., Segalés, J. & Sibila, M. (2019). Comparison of vaccination protocols against *Mycoplasma hyopneumoniae* during the gilt acclimation period. *Veterinary Microbiology*, 229, 7-13.

11. Garza-Moreno, L., Segalés, J., Pieters, M., Romagosa, A. & Sibila, M. (2018). Acclimation strategies in gilts to control *Mycoplasma hyopneumoniae* infection. *Veterinary Microbiology*, 219, 23-29.

12. Holmgren, N., Lundeheim, N. & Wallgren, P. (1999). Infections with *Mycoplasma hyopneumoniae* and *Actinobacillus pleuropneumoniae* in fattening pigs; Influence of piglet production system and influence on production parameters. *Journal of Veterinary Medicine series B*, 46, 535-544.

13. Jensen, C.S., Ersbøll, A.K. & Nielsen, J.P. (2002). A meta-analysis comparing the effect of vaccines against *Mycoplasma hyopneumoniae* on daily weight gain in pigs. *Preventive Veterinary Medicine*, 54, 265-278.

- 14.** Jones, G.F., Rapp-Gabrielson, V., Wilke, R., Thacker, E.L., Thacker, B.J., Gergen, L., Sweeney, D. & Wasmoen, T. (2005). Intradermal vaccination for *Mycoplasma hyopneumoniae*. *Journal of Swine Health and Production*, 13, 19-27.
- 15.** Maes, D., Deluyker, H., Verdonck, M., Castryck, F., Miry, C., Lein, A., Vrijens, B. & de Kruif, A. (1998). The Effect of Vaccination against *Mycoplasma hyopneumoniae* in Pig Herds with a Continuous Production System. *Zoonoses and Public Health*, 45, 495-505.
- 16.** Maes, D., Deluyker, H., Verdonck, M., Castryck, F., Miry, C., Vrijens, B., Verbeke, W., Viaene, J. & de Kruif, A. (1999). Effect of vaccination against *Mycoplasma hyopneumoniae* in pig herds with an all-in/all-out production system. *Vaccine*, 17, 1024-1034.
- 17.** Maes, D., Segalés, J., Meyns, T., Sibila, M., Pieters, M. & Haesebrouck, F. (2008). Control of *Mycoplasma hyopneumoniae* infections in pigs. *Veterinary Microbiology*, 126, 297-309.
- 18.** Maes, D., Boyen, F., Dellagostin, O., Shao, G., Haesebrouck, F. (2020). In: Book *Mycoplasmas in Swine*. Chapter 11. Editors: Dominiek Maes, Marina Sibila, Maria Pieters. ISBN 978-94-6379-796-2, Acco Publishers, Leuven Belgium, 207-220.
- 19.** Marois, C., Gottschalk, M., Morvan, H., Fablet, C., Madec, F. & Kobisch, M. (2009). Experimental infection of SPF pigs with *Actinobacillus pleuropneumoniae* serotype 9 alone or in association with *Mycoplasma hyopneumoniae*. *Veterinary Microbiology*, 135, 283-291.
- 20.** Martelli, P., Saleri, R., Cavalli, V., De Angelis, E., Ferrari, L., Benetti, M., Ferrarini, G., Meriardi, G., Borghetti, P. (2014). Systemic and local immune response in pigs intradermally and intramuscularly injected with inactivated *Mycoplasma hyopneumoniae* vaccines. *Veterinary Microbiology*, 168, 357-364.
- 21.** Meyns, T., Dewulf, J., de Kruif, A., Calus, D., Haesebrouck, F. & Maes, D. (2006). Comparison of transmission of *Mycoplasma hyopneumoniae* in vaccinated and non-vaccinated populations. *Vaccine*, 24, 7081-7086.
- 22.** Pieters, M., Fano, E., Pijoan, C. & Dee, S. (2010). An experimental model to evaluate *Mycoplasma hyopneumoniae* transmission from asymptomatic carriers to unvaccinated and vaccinated sentinel pigs. *Canadian Journal of Veterinary Research*, 74, 157-160.
- 23.** Ruiz, A., Utrera, V. & Pijoan, C. (2003). Effect of *Mycoplasma hyopneumoniae* sow vaccination on piglet 819 colonization at weaning. *Journal of Swine Health and Production*, 11, 131-135.
- 24.** Sibila, M., Bernal, R., Torrents, D., Riera, P., Llopart, D., Calsamiglia, M. & Segalés, J. (2008). Effect of sow vaccination against *Mycoplasma hyopneumoniae* on sow and piglet colonization and seroconversion, and pig lung lesions at slaughter. *Veterinary Microbiology*, 127, 165-170.
- 25.** Sibila, M., Nofrarias, M., Lopez-Soria, S., Segalés, J., Valero, O., Espinal, A. & Calsamiglia, M. (2007a). Chronological study of *Mycoplasma hyopneumoniae* infection, seroconversion and associated lung lesions in vaccinated and non-vaccinated pigs. *Veterinary Microbiology*, 122, 97-107.
- 26.** Sibila, M., Calsamiglia, M., Nofrarias, M., López-Soria, S., Espinal, A., Segalés, J., Riera, P., Llopart, D. & Artigas, C. (2004b). Longitudinal study of *Mycoplasma hyopneumoniae* infection in naturally infected pigs. In: *Proceedings of the 18th IPVS Congress, Hamburg, Germany, June 27 to July 1*, 169.
- 27.** Tassis, P.D., Papatsiros, V.G., Nell, T., Maes, D., Alexopoulos, C., Kyriakis, S.C. & Tzika, E.D. (2012). Clinical evaluation of intradermal vaccination against porcine enzootic pneumonia (*Mycoplasma hyopneumoniae*). *Veterinary Record*, 170, 261.
- 28.** Villarreal, I., Vranckx, K., Duchateau, L., Pasmans, F., Haesebrouck, F., Jensen, J., Nanjiani, I., & Maes, D. (2010). Early *Mycoplasma hyopneumoniae* infections in European suckling pigs in herds with respiratory problems: detection rate and risk factors. *Veterinary Medicine Czech* 55, 318-324.
- 29.** Villarreal, I., Meyns, T., Haesebrouck, F., Dewulf, J., Vranckx, K., Calus, D., Pasmans, F. & Maes, D. (2011). Effect of vaccination against *Mycoplasma hyopneumoniae* on the transmission of *M. hyopneumoniae* under field conditions. *The Veterinary Journal*, 188, 48-52.
- 30.** Vranckx, K., Maes, D., Villarreal, I., Chiers, K., Pasmans, F. & Haesebrouck, F. (2012). Vaccination reduces macrophage infiltration in bronchus-associated lymphoid tissue in pigs infected with a highly virulent *Mycoplasma hyopneumoniae* strain. *BMC Veterinary Research*, 8, 24.
- 31.** Wallgren, P., Bölske, G., Gustafsson, S., Mattsson, S. & Fossum, C. (1998). Humoral immune responses to *Mycoplasma hyopneumoniae* in sows and offspring following an outbreak of mycoplasmosis. *Veterinary Microbiology*, 60, 193-205.
- 32.** Wallgren, P., Vallgård, J., Lindberg, M., Eliasson, S., Selling, L. & Segall, T. (2000). The efficacy of different vaccination strategies against *Mycoplasma hyopneumoniae*. In: *Proceedings of the 16th IPVS Congress, Melbourne, Australia*, 461.