

DESARROLLO DE UN MODELO EXPERIMENTAL PARA DEMOSTRAR LA INTERACCION
ENTRE *Mycoplasma hyopneumoniae* y *Haemophilus parasuis*.

J.H.Lara,¹ M.E. Torres., A. Sánchez., J. Tortora., T. Cruz., E. Hernández., S. Mendoza y A. Ciprián.
Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, U.N.A.M. Catedra : Microbiología de las Enfermedades
Respiratorias del Cerdo. PADEP 100001, CONACyT 1150 P-B, ¹Becario CONACyT 85887.

INTRODUCCION

Como es bien sabido las neumonías causan pérdidas económicas debido a las alteraciones en la ganancia de peso, conversión alimenticia y eficiencia alimenticia entre otros parámetros productivos. De 1977 a 1989, Icaza indico que el porcentaje de decomisos por causas respiratorias aumento de un 18% a un 37%, en donde las principales causas fueron: Pleuroneumonía Contagiosa Porcina, Pasterelosis pulmonar y causas diversas. Existen evidencias de las interacciones entre diferentes patógenos primarios y secundarios y aún entre patógenos primarios, como lo demostró Pijoan y Ochoa (1978) con Virus de la Fiebre Porcina Clásica y *Pasteurella multocida*, Ciprián y cols (1988) demostraron la interacción entre *Mycoplasma hyopneumoniae* y *Pasteurella multocida*, Yagihashi y cols.(1991) la interacción entre *Mycoplasma hyopneumoniae* y *Actinobacillus pleuropneumoniae*. En la actualidad en México se han presentado una serie de casos neumónicos sobreagudos en los que los agentes etiológicos no han sido perfectamente determinados. Algunos investigadores sugieren una posible interacción entre *Mycoplasmas* y *Haemophilus parasuis*. Este último agente fue reportado de aislamientos de campo en México por Trujano e Iglesias (1994). Los trabajos existentes de posibles interacciones entre el *Haemophilus parasuis* y otros agentes no han sido determinantes (Solano 1995), motivo por el cual surge el interés para la realización de este trabajo.

MATERIAL Y METODOS

I.-Animales: Se utilizaron 16 lechones de 21 días de edad, procedentes de una granja libre de enfermedades respiratorias, a los cuales se les tomo una muestra sanguínea y resultaron negativos a *M. hyopneumoniae*, *H. parasuis*, *M. hyorhinis*, *A. pleuropneumoniae*, PEARs, VEA y Virus de la Enfermedad de Ojo Azul. Los cuales fueron divididos por peso en 4 diferentes grupos, a los que se les denomino de la siguiente manera: Grupo 1 (control negativo), Grupo 2 (inoculado por vía intratraqueal con 10 ml. de homogeneizado pulmonar de *Mycoplasma hyopneumoniae*), Grupo 3 (nebulizado con 1.5×10^8 bacterias/ml. en un total de 27 ml. de *Haemophilus parasuis*), Grupo 4 (inoculado intratraquealmente con homogeneizado pulmonar de *Mycoplasma hyopneumoniae* y nebulizado con 1.5×10^8 bacterias/ml. en un total de 27 ml. de *Haemophilus parasuis*).

II.-Material biológico: Se cultivo la cepa ATCC 19417 de *Haemophilus parasuis* en agar PPLO adicionado con extracto fresco de levadura y se ajusto por nefelometría a 1.5×10^8 bacterias/ml.. A su vez se sembró en medio de Friis, la cepa ATCC 25934 de *Mycoplasma hyopneumoniae* y se ajusto a 1×10^7 UCC/ml. con lo que se realizó un desafío en un lechón de 21 días de edad, sacrificandose al momento de presentar signos respiratorios, obteniendose el pulmón en forma aséptica, elaborando un homogeneizado, el cual fue inoculado intratraquealmente a otro lechón de la misma edad y cuando presentó signos respiratorios fue sacrificado, obteniendo, de igual forma a la descrita anteriormente el homogeneizado pulmonar adecuado para la realización de la inoculación.

III.- Cámara de nebulización: se utilizó una cámara de nebulización construida según Sebunya y cols. La cual se uso a una presión de 2kg/cm² para obtener la partícula del tamaño deseado, en donde los grupos fueron nebulizados durante 30 minutos con el inoculo preparado anteriormente o en su caso con SSFE.

IV.- Toma de muestras sanguíneas y constantes fisiológicas: Se realizaron muestreos sanguíneos y registro de peso cada 7 días, mientras que las constantes fisiológicas y la observación de la signología clínica se realizó diariamente.

V.- Inoculación y nebulización:

Grupo 1.- Inoculación intratraqueal de 10 ml. de SSFE., el Día 1, y nebulización de 27 ml. de SSFE. el día 16.

Grupo 2.- Inoculación intratraqueal de 10 ml. de homogeneizado pulmonar con *M. hyopneumoniae* el día 1.

Grupo 3.- Nebulización con 27ml de un inoculo de *Haemophilus parasuis* a 1.5×10^8 bacterias/ml. por 30 min., el día 16.

Grupo 4.- Inoculación intratraqueal con 10 ml. de homogeneizado pulmonar con *M. hyopneumoniae*, el día 1 y nebulizado con 27 ml./30 min., de una suspensión de *H. parasuis* el día 16.

VI.- Sacrificio y toma de muestras: se llevo a cabo el día 23 mediante la acción de neuroleptoanalgesia y exsanguinación. Se realizó la toma de muestra sanguínea y se efectuó la necropsia correspondiente, tomando los datos pertinentes para la planimetría, así como las muestras necesarias para el reaislamiento, inmunohistoquímica e histopatología.

RESULTADOS

Signología: El grupo 1, no presentó signos clínicos ni antes ni después de las inoculaciones. El grupo 2 al día 5 posinoculación con *M. hyopneumoniae*, presentó estornudos, tos seca y disnea, los cuales se agravaron conforme avanzó el experimento, hasta manifestarse en estertores húmedos y postración. El grupo 3 manifestó disnea, estertores húmedos al día 17, los cuales se agravaron al avanzar el experimento. El grupo 4 hacia el día 7 posinoculación con *M. hyopneumoniae* presentó estornudos, tos seca, disnea en esfuerzo, los cuales se exacerbaron alrededor del día 17 hasta producir estertores húmedos, disnea en reposo y postración.

Lesiones macroscópicas: El grupo 1 se mantuvo sin cambios patológicos aparentes, 0% de lesión pulmonar. El grupo 2 presentó en 2 de 4 animales lesiones leves con resolución, con un 2% de lesión pulmonar. El grupo 3, en tres de los cuatro animales se encontraron lesiones leves a severas con adherencias moderadas, con un 13 % de lesión pulmonar. En el grupo 4, dos de los cuatro animales presentaron lesiones severas con adherencias apicales, cardíacas y diafragmáticas severas, así como hidrotorax, con un 7% de lesión pulmonar.

Lesiones microscópicas: el grupo 1, se mantuvo sin cambios patológicos aparentes. El grupo 2 presentó trombos, activación del BALT y ligera neumonía intersticial. En El grupo 3 se encontró activación del BALT, periarteritis, bronquiolos con detritus celulares, macrofagos activados y en destrucción, zonas de fibrosis, deposición de fibrina y la presencia de PMN en la luz bronquiolar. Por su parte el grupo 4 presentó lesiones similares al anterior y en hígado se observo necrosis focal con acúmulo de mononucleares.

Inmunología: Las pruebas para *M. hyopneumoniae* (ELISA, IFA) fueron negativas para los grupos 1 y 3, mientras que para los grupos 2 y 4 los resultados fueron positivos. Las prueba de Aglutinación para *Haemophilus parasuis* fue negativa para los grupos 1 y 2, y los grupos 3 y 4 resultaron positivos. Para el VEA, PEARs, *A. pleuropneumoniae* y Virus de la Enfermedad de Ojo Azul los resultados fueron negativos en todos los grupos.

Reaislamientos: En los grupos 2 y 4 se reaisló e identificó al *M. hyopneumoniae*, mientras que en los grupos 3 y 4 se aislo e identificó al *H. parasuis*., el grupo 1 fue negativo para el aislamiento de ambos agentes.

Análisis estadístico: Los resultados obtenidos de la planimetría (lesiones 1) fueron analizados en un Diseño Completamente Aleatorio encontrándose que por los resultados de las lesiones pulmonares los grupos son homogéneos.

DISCUSION

En base a los resultados obtenidos en lo que respecta a signos, lesiones macroscópicas, lesiones microscópicas, inmunología y reaislamientos encontramos resultados similares a los esperados y en el análisis estadístico para este experimento en particular, determinamos que aparentemente no existe una sinergia entre *M. hyopneumoniae* y *H. parasuis*, resultado contrario al que en el campo aparentemente se observa, concluyendo que como se trata del primer experimento en el que se intenta demostrar esta sinergia se deberá de seguir realizando ensayos, variando las condiciones en las que se desarrollo esta investigación.

GRAFICA 1
% LESION PULMONAR



REFERENCIAS

- 1.- Ciprián, A., Pijoan, C., Cruz, T., Camacho, J., Tortora J., Colmenares, G., López-Revilla, R. and de la Garza, M., 1988. Can.J.Vet Res., 52: 434-438.
- 2.- Pijoan C. and Ochoa, G., 1978. J.Comp. Path., 88(2): 167-170.
- 3.- Solano, G., Memorias del VI Congreso ALVEC, Santafé de Bogotá, 1995.
- 4.- Trujano, M., Iglesias, G. y López, C., Memorias del XXIX congreso Nacional de AMVEC, 1994, Puerto Vallarta, Jalisco.
- 5.- Yagihashi, T., Nunoya, T., Mitui, T. and Tajima, 1984.M.Jpn. J.Vet.Sci. 46(5):705-713.