

---

## EVALUACIÓN DE LA EXPOSICIÓN DE *MYCOPLASMA HYOPNEUMONIAE*, VIRUS DE PRRS, Y VIRUS DE INFLUENZA PORCINA. UTILIZANDO SEROLOGÍA Y PCR (REACCIÓN EN CADENA DE LA POLIMERASA) EN CERDOS DE CRECIMIENTO Y FINALIZACIÓN.

G.J. Bosch, D.V.M.

### INTRODUCCIÓN

Se ha visto que entre el *Mycoplasma hyopneumoniae* y el virus de PRRS existe sinergia en su habilidad para producir enfermedades respiratorias<sup>1</sup>. En casos de campo donde se presenta el complejo respiratorio porcino (PRDC), el diagnóstico patológico en la mayoría de ellos, ha encontrado una combinación de PRRS y *Mycoplasma hyopneumoniae* junto con otras bacterias oportunistas tales como *Pasteurella multocida*.<sup>2</sup> El examen serológico de una granja con alta incidencia (PRDC) en donde se involucró PRRS y *Mycoplasma hyopneumoniae*, se encontró positivo al virus de PRRS en los animales, antes de moverlos al área de finalización, con la subsecuente seroconversión a *Mycoplasma hyopneumoniae* entre las 5 y 7 semanas después de su llegada.<sup>3</sup>

Las estrategias de control dirigidas a *Mycoplasma hyopneumoniae* normalmente son efectivas para reducir la severidad de PRDC en cerdos de crecimiento y finalización. Los motivos por el que estas estrategias llegan a fallar, pueden estar relacionados con el momento de su implementación. Los perfiles serológicos, han sido una herramienta efectiva de análisis epidemiológico de los patógenos causantes de la enfermedad. Utilizar esta información para desarrollar estrategias de control, funciona con la mayoría de los patógenos, cuando la seroconversión normalmente sucede dentro de la primera o segunda semana, después de la exposición. De cualquier forma en el caso de la prueba ELISA Tween 20, para *Mycoplasma hyopneumoniae*, el tiempo desde la exposición a la seroconversión, puede ser mayor.<sup>4</sup>

Un método más sensible para evaluar la epidemiología de *Mycoplasma hyopneumoniae* sería de mayor utilidad para establecer programas de control de PRDC involucrando el uso de antibióticos contra *Mycoplasma hyopneumoniae*. Este documento analiza la relación entre la seroconversión de PRRS y *Mycoplasma hyopneumoniae* y la detección de *Mycoplasma hyopneumoniae* por la prueba de reacción en cadena de la polimerasa (PCR). La metodología de PCR para *Mycoplasma hyopneumoniae* fue desarrollada en 1993.<sup>5</sup> El uso de PCR a partir de hisopos nasales ha mostrado que el *Mycoplasma hyopneumoniae* se puede detectar de la cavidad nasal superior por un corto período de tiempo.<sup>6</sup> El desarrollo de la metodología de PCR envuelto ha incrementado su sensibilidad y especificidad para detectar *Mycoplasma hyopneumoniae* en la cavidad nasal superior.<sup>7</sup>

El objetivo de este proyecto, fue para tener mayor conocimiento de la interacción entre PRRS y *Mycoplasma hyopneumoniae* y su habilidad para causar enfermedad respiratoria y encontrar un método de predicción antemortem que describa la epidemiología de *Mycoplasma hyopneumoniae* en una granja con PRDC.

### MATERIAL Y MÉTODO

Se examinaron tres granjas porcinas. El tamaño de la granja en todos los casos fue mayor a 1000 vientres. Se colectaron muestras de sangre e hisopos nasales, utilizando una técnica de muestreo seccional cruzada, todas las muestras fueron tomadas el mismo día en los diferentes grupos por edades. Los grupos seleccionados para muestreo en cada granja, provinieron de un único primer sitio. La edad de los grupos seleccionados para muestreo fueron 6, 10, 14, 18, y 22 semanas de edad.

Se colectó el suero de la sangre y se evaluó para PRRS, VIP, y *Mycoplasma hyopneumoniae*. Todas las pruebas serológicas se realizaron en el Laboratorio de Diagnóstico de la Universidad Estatal de Iowa. Se utilizó el sistema ELISA IDDEX para detección de anticuerpos a PRRS. La prueba serológica para VIP fue con HI y la prueba serológica para *Mycoplasma hyopneumoniae* fue con la técnica ELISA Tween 20.

Los hisopos nasales fueron enviados por la Universidad de Minesota para detectar la presencia de DNA de *Mycoplasma hyopneumoniae* por medio de PCR envuelto.

## Caso 1

### GRANJA 1

| Edad       | PRRS  |           | M. hyo |           | VIP  |       | M. hyo   |
|------------|-------|-----------|--------|-----------|------|-------|----------|
|            | % Pos | Prom. S/P | %Pos   | Prom. S/P | %Pos | Prom. | PCR %Pos |
| 6 semanas  | 40    | .28       | 5      | .03       | 65   | 69.5  | 50       |
| 10 semanas | 75    | .96       | 20     | .17       | 25   | 38    | 60       |
| 14 semanas | 100   | 1.44      | 0      | 0         | 0    | 0     | 70       |
| 18 semanas | 100   | 1.83      | 30     | .35       | 5    | 1     | 70       |
| 22 semanas | 100   | 1.27      | 50     | .81       | 25   | 13.5  | 10       |

Este sistema de producción, constantemente presentó problemas respiratorios en los cerdos de finalización entre las 16 y las 18 semanas de edad. Se ha diagnosticado PRRS y *Mycoplasma hyopneumoniae* junto con otras infecciones bacterianas secundarias en base al envío de tejidos al laboratorio de diagnóstico. Este es un sistema de producción de 3 sitios, con destete temprano (17 días) y un manejo todo dentro, todo fuera por sala o edificio.

Los cerdos se han vacunado contra *Mycoplasma hyopneumoniae* entre las 4 y 6 semanas de edad. Existe un ligero incremento en el porcentaje de cerdos serológicamente positivos en el grupo de 10 semanas de edad, lo cual probablemente se debe al programa de vacunación. Hay un subsecuente decremento en los animales serológicamente positivos alrededor de las 14 semanas de edad, con otro crecimiento gradual en los grupos de entre 18 y 22 semanas de edad. Este último incremento de los animales serológicamente positivos a *Mycoplasma hyopneumoniae* es muy probable que sea debido a exposiciones con cepas de campo.

El PCR a partir de hisopos nasales, indica que la transmisión de *Mycoplasma hyopneumoniae* ocurre en etapas tempranas de la lactancia. A pesar de que esta prueba no es una medida cuantitativa de la dosis infectante, se podría asumir que muchos de los cerdos positivos podrían estar adquiriendo una dosis infectante. Consecuentemente pareciera que el tiempo de transmisión de infección de *Mycoplasma hyopneumoniae* no se correlaciona bien con la seroconversión a *Mycoplasma hyopneumoniae*.

Dado que los cerdos seroconvierten a PRRS dentro de las 2 semanas de exposición al virus es muy probable que esté ocurriendo una exposición fuerte en el comienzo o a mediados de la etapa de lactancia. Esto coincide con la transmisión de *Mycoplasma hyopneumoniae*.

El VIP muestra anticuerpos maternos tempranos, pero no una seroconversión sustancial al virus de campo, sino hasta el período de finalización a las 22 semanas de edad. El VIP no pudo ser determinado como parte del complejo respiratorio en esta granja.

## Caso 2

### GRANJA 2

| Edad              | PRRS  |           | M. hyo |           | VIP  |       | M. hyo   |
|-------------------|-------|-----------|--------|-----------|------|-------|----------|
|                   | % Pos | Prom. S/P | %Pos   | Prom. S/P | %Pos | Prom. | PCR %Pos |
| 6 semanas         | 0     | .10       | 45     | .57       | 65   | 31    | 10       |
| 10 semanas        | 5     | .05       | 40     | .35       | 15   | 9.5   | 50       |
| 14 semanas        | 100   | 1.5       | 25     | .25       | 25   | 10    | 60       |
| 18 semanas        | 0     | .03       | 30     | .33       | 50   | 18.5  | 90       |
| <b>22 semanas</b> | 90    | .707      | 55     | .63       | 25   | 8     | 100      |

Esta granja se manejó en un sistema de producción de 2 sitios, en donde los cerdos de crecimiento y finalización fueron ubicados en corrales desde el destete a finalización. El examen del perfil serológico reveló que solamente los grupos de 14 y 22 semanas de edad fueron positivos al virus de PRRS. Estos 2 grupos, en este perfil fueron vacunados contra PRRS con una vacuna viva modificada a las 6 semanas de edad. Existe una fuerte indicación de que estos 2 grupos sin esta vacuna podrían haber resultado negativos tal como los otros tres grupos de cerdos por edades. Se podría asumir que estos cerdos en crecimiento y finalización fueron negativos a la exposición al virus de campo de PRRS.

Los cerdos en esta granja fueron vacunados contra *Mycoplasma hyopneumoniae* a los 10 días de edad y nuevamente a las 4 semanas de edad. En este caso existe una mayor correlación entre la seroconversión a *Mycoplasma hyopneumoniae* y su transmisión, determinada por el PCR nasal. Los anticuerpos maternos para VIP comienzan en los grupos de 6 y 10 semanas de edad, con una ligera seroconversión debida a la exposición a una cepa de campo del virus en los grupos de mayor edad. No hay enfermedad respiratoria clínica en los cerdos de crecimiento y finalización de esta granja.

## Caso 3

### GRANJA 3

| Edad              | PRRS  |           | M. hyo |           | VIP  |       | M. hyo   |
|-------------------|-------|-----------|--------|-----------|------|-------|----------|
|                   | % Pos | Prom. S/P | %Pos   | Prom. S/P | %Pos | Prom. | PCR %Pos |
| 6 semanas         | 20    | .14       | 10     | .15       | 100  | 296   | 20       |
| 10 semanas        | 25    | .19       | 35     | .61       | 90   | 201   | 0        |
| 14 semanas        | 100   | 1.42      | 5      | .04       | 15   | 5     | 90       |
| 18 semanas        | 100   | 1.38      | 0      | .03       | 25   | 15    | 75       |
| <b>22 semanas</b> | 100   | 1.69      | 90     | 1.37      | 55   | 39    | 100      |

El manejo y la enfermedad respiratoria clínica, son muy similares entre las granjas 1 y 3.

Esta granja fue vacunado contra *Mycoplasma hyopneumoniae* a las 4 y 6 semanas de edad.

Es muy probable que este programa de vacunación, sea motivo del incremento y caída en el porcentaje de los animales serológicamente positivos entre las 6 y 14 semanas de edad. Los cerdos no seroconvierten a la exposición de campo de *Mycoplasma hyopneumoniae* hasta las 22 semanas de edad, aún así se puede observar una fuerte transmisión de *Mycoplasma hyopneumoniae*, tal como se determinó por el PCR y que ocurre tan temprano como a las 10 semanas de edad. La mayoría de los cerdos muestreados seroconvirtieron a PRRS aproximadamente al mismo tiempo. Tanto PRRS como *Mycoplasma hyopneumoniae* han sido los agentes primarios en el complejo de enfermedades respiratorias de esta granja.

---

Hay gran cantidad de anticuerpos maternos a VIP debido a la vacunación de las cerdas, con la vacuna para VIP antes del parto. La seroconversión por exposición al virus de campo está comenzando a las 14 semanas de edad, con un incremento gradual, en el porcentaje de cerdos positivos a las 22 semanas de edad. El VIP no ha mostrado ser parte de este complejo de enfermedades respiratorias.

## CONCLUSIONES

Es importante entender el proceso de transmisión y colonización temprana en cerdos en crecimiento y finalización de *Mycoplasma hyopneumoniae* para la implementación de programas de vacunación y de antibióticos. Al parecer la prueba de PCR envuelto a partir de hisopos nasales es mejor que la serología con ELISA, para determinar estos factores.

En base a la información de estas tres granjas, puede haber una asociación entre la seroconversión al virus de PRRS y la transmisión de *Mycoplasma hyopneumoniae*.

## REFERENCIAS

1. Artiushin, S., Stipkovits, L. and Minion, F.C., Development of Polimerasa Chain Reaction Primers to Detect *Mycoplasma hyopneumoniae*, *Molecular and Cellular Probes* (1993) 7, 381-385.
2. Calsamiglia, Maria, Pijoan, Carlos, PCR Based Diagnostics for Profiling *Mycoplasma hyopneumoniae* Shedding. Leman Conference Proceedings 1998, p 54-56.
3. Halbur, Patrick G., PRRSV Interactions with *Streptococcus suis* and *Mycoplasma hyopneumoniae*. Swine Disease Conference for Swine Practitioners Proceedings 1998, p. 9-17.
4. Kolb, J., Roof, M., A Severe Case of *Mycoplasma hyopneumoniae* Infection as a Primary Pathogen in the Porcine Respiratory Disease Complex. In *Proc. Of 15<sup>th</sup> International Pig Veterinary Society Congress* (1998): Vol. 2: 132.
5. Mattsson, Jens G., Bergstrom, Katrin, Wallgren, Per, Johansson, Karl-Erik; Detection of *Mycoplasma hyopneumoniae* in Nose Swabs from Pigs by in-vitro Amplification of the 16s rRNA Gene; *Journal of Clinical Microbiology*, April 1995, p. 893-897.
6. Pijoan, Carlos, Serology of *Mycoplasma hyopneumoniae*, Leman Conference Proceedings 1994, p. 8.
7. Thacker, Eileen, Halbur, Pat, Thacker, Brad, *Mycoplasma* and PRRS Interactions – Their Possible Role in PRDC, AASP Proceedings 1998, p 351-356.