

Actualidades en la epidemiología de *Mycoplasma hyopneumoniae*

Eduardo Fano, Carlos Pijoan, Scott Dee

Swine Disease Eradication Center, University of Minnesota

Mycoplasma hyopneumoniae (*M. hyopneumoniae*) continua siendo un importante agente patógeno involucrado en los procesos de enfermedad respiratoria durante la fase de engorde y finalizado. Se ha documentado que la presentación clínica de la enfermedad esta fuertemente influenciada por factores como ambiente, interacción con otras infecciones, tipo de instalaciones y sistema de producción. Modificaciones en los sistemas de producción han ocasionado cambios en la epidemiología del agente, podemos observar desde la clásica enfermedad respiratoria en el destete en sistemas tradicionales de ciclo completo y flujo continuo, hasta la presentación de enfermedad respiratoria severa durante la fase intermedia o final del periodo de engorde en sistemas segregados. Esta variación en los patrones de enfermedad ha llevado a la modificación y/o adecuación de las estrategias encaminadas al control de la infección por *M. hyopneumoniae*.

El entendimiento epidemiológico de *M. hyopneumoniae* es de suma importancia para el desarrollo de estrategias encaminadas al control de la enfermedad por medio de la reducción de la tasa de infección del agente. A nivel granja día con día se hacen especulaciones sobre el patrón epidemiológico del agente en el sistema y algunas veces podemos caer en conclusiones sin mucho fundamento. Basándonos en este punto, podemos hacernos las siguientes preguntas:

¿Que es lo que sabemos de la epidemiología de *M. hyopneumoniae* ?

¿Que más necesitamos saber sobre la epidemiología de *M. hyopneumoniae* ?

¿Cómo podemos sacar ventaja de esta información epidemiológica en beneficio de nuestros programas de control y erradicación?

A continuación describiré conceptos importantes que forman parte de la epidemiología de *M. hyopneumoniae*, los cuales son cruciales para entender la dinámica de infección del agente en las condiciones actuales de producción.

Variación Genética

Existen estudios que indican variación genética e inmunológica entre cepas de *M. hyopneumoniae* (Desrosiers, 2001). En un estudio reciente se concluyó que existe variación en virulencia entre diferentes aislamientos provenientes de varias granjas (Vica et al., 2003). Actualmente esta sección del estudio de la epidemiología de *M. hyopneumoniae* se encuentra bajo fuerte investigación. Técnicas moleculares encaminadas a la diferenciación genética podrían ser ampliamente utilizadas para el seguimiento epidemiológico dentro de las poblaciones porcinas. Lo cual podría ser directamente aplicado a programas de control a gran escala.

Periodo de incubación

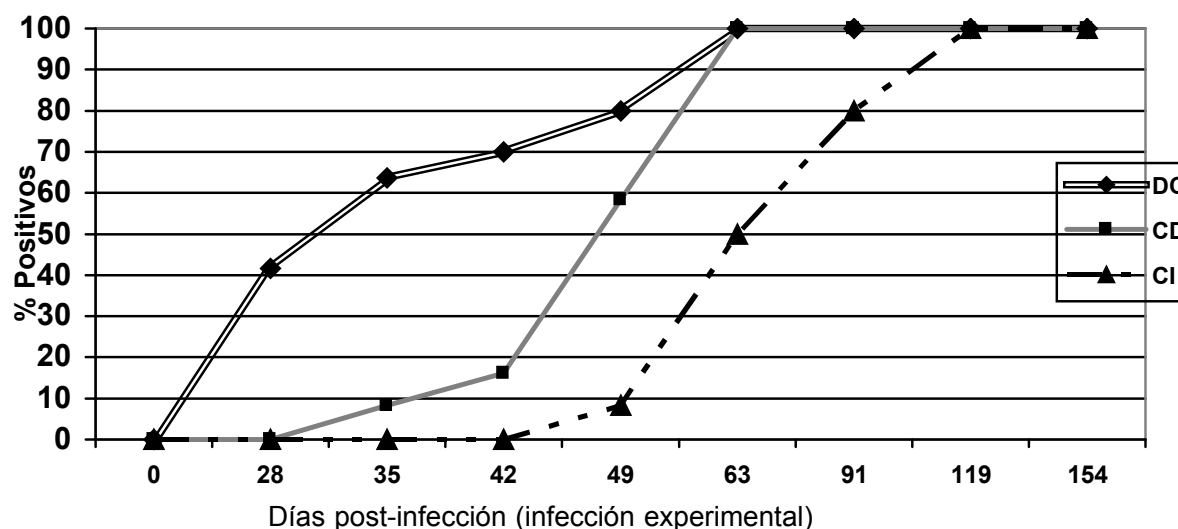
En condiciones experimentales la aparición de signos clínicos (tos) se ha reportado de 10 a 16 días post-infección (Kobish et al., 1992; Sorensen et al., 1996), sin embargo este periodo es sumamente variable en condiciones de campo. En condiciones de campo se sugiere una diseminación lenta del agente, lo cual resulta en retraso en la manifestación de la sintología clínica asociada a este agente. Basándonos en esta observación se ha manejado la hipótesis de que existe un efecto de la dosis infectante y de la proporción de animales excretando el agente sobre la duración del periodo de incubación. En casos donde el diseño de los programas de control está basado en el momento de aparición de signos clínicos, debe de ser considerada la variación anteriormente comentada. Bajo esta situación será de suma importancia identificar el periodo de incubación específico al grupo o grupos a intervenir, el cual dependerá de las características de infección presentadas en ese momento.

Seroconversión

En desafíos experimentales los anticuerpos específicos a *M. hyopneumoniae* pueden ser detectados de 2 a 3 semanas post-infección. En estos casos no todos los cerdos seroconvierten al mismo tiempo y no es hasta 4 a 6 semanas después del desafío que todos los animales seroconvierten (Piffer et al., 1984; Suter et al., 1985; Messier et al., 1990). En condiciones de campo el momento de seroconversión parece aun más retardado y

sumamente variable. Basándonos en este punto y con el interés de generar información proveniente de estudios controlados, pero no alejados de la verdadera situación de producción, se realizó un estudio con la finalidad de determinar la dinámica de infección y comparar el patrón de seroconversión de *M. hyopneumoniae* en cerdos infectados experimentalmente y naturalmente. Un primer grupo de cerdos fue inoculado experimentalmente utilizando la vía intratraqueal y con el fin de crear condiciones naturales de infección, durante el mismo día de desafío, un segundo grupo fue colocado en contacto directo con los animales inoculados (en los mismos corrales). Un tercer grupo fue colocado en corrales independiente dentro del mismo edificio, este último grupo fue considerado como contacto indirecto. Los tres grupos fueron evaluados serológicamente, tomando muestras a los 0, 28, 35, 42, 63, 91, 119 y 155 días después de la inoculación. Las muestras fueron evaluadas por medio de la técnica de ELISA utilizando la prueba de DAKO. El perfil serológico de cada uno de los grupos involucrados se presenta en la figura 1. En los grupos considerados como contacto directo e indirecto (infección natural), el patrón de seroconversión se observó más retardado, siendo esto más notorio en el grupo de contacto indirecto. Lo anterior puede ser explicado por la diferencia que pudo haber existido en el momento de infección, donde se asume que los grupos infectados naturalmente también presentaron un retraso. Sin embargo, es evidente que para los grupos que fueron expuestos al agente mediante contacto, ya sea animal con animal o indirectamente, es necesario más tiempo para desarrollar seroprevalencias altas. Nuestra principal teoría que podría explicar esta observación, es que el proceso de seroconversión y de diseminación del agente en una población, pudieran ser dosis dependiente. Lo anterior se fundamenta en que con certeza sabemos que los cerdos inoculados recibieron una dosis fuerte del agente y con seguridad podemos pensar que dicha dosis fue mayor a la que recibieron los animales infectados por contacto. La diferencia observada en los tres grupos evaluados en este estudio, podría explicar la variabilidad de los patrones de seroconversión observados en el campo, donde diferencias en la presión de infección y el tipo de transmisión podrían estar jugando un papel importante en dicha variación..

Figura 1. Patrón serológico observado en los tres grupos bajo diferente ruta de infección. DC, animales directamente inoculados; CD, animales expuestos por contacto directo; CI, Animales expuestos por contacto indirecto.



Transmisión

Se ha descrito que la principal vía de transmisión de *M. hyopneumoniae* es la que se da por contacto directo, es decir nariz con nariz (Done, 1996). Se han propuesto otras vías de transmisión en forma indirecta como fomites y por aire (Goodwing, 1986). Esta última ha sido propuesta a raíz de estudios epidemiológicos que han analizado el riesgo de contaminación de granjas susceptibles, mas nunca se había documentado la transmisión del agente por aerosol en forma experimental. Basándonos en este punto nuestro grupo realizó un estudio con el objeto de demostrar experimentalmente que *M. hyopneumoniae* se trasmite vía aérea en distancias cortas. Para llegar a este resultado un grupo de cerdos fue alojado en un edificio convencional de engorda con ventilación mecánica, posterior a la recepción e identificación los animales fueron inoculados con *M. hyopneumoniae*. En el día 28 post-infección un trailer con cerdos negativos a *M. hyopneumoniae*, (centinelas) fue ubicado a 1 metro de distancia en uno de los costados del edificio. Los cerdos centinelas permanecieron expuestos al aire proveniente del edificio (fuente de infección) por 7 días, después fueron trasladados a otras instalaciones y permanecieron ahí 3 semanas. En el día 42 post-infección se repitió el mismo proceso contando en esta ocasión con 2 trailers. El agente fue detectado en cerdos centinelas provenientes de los dos trailers utilizados en el

día 42 post-infección y en muestras de aire tomadas dentro del edificio que alojó a los cerdos infectados y directamente del aire expulsado por los extractores. Este estudio pone de manifiesto que transmisión vía aire entre edificios es un evento probable, por lo tanto estrategias encaminadas a la disminución de la excreción del agente podrían contribuir a la reducción de la carga de *M. hyopneumoniae* en el ambiente. Detección del agente en muestras de aire tomadas en edificios de engorda, no es algo complicado si se cuenta con una técnica de PCR anidado. Esto podría ayudar al monitoreo del agente en donde medidas de control y bioseguridad son evaluadas en forma de rutina. Sobre la transmisión de *M. hyopneumoniae* vía aire a través de largas distancias será necesario mas evidencia para confirmar este evento.

Duración de la infección

M. hyopneumoniae es considerado uno de los mas importantes agentes asociados a enfermedad crónica en las poblaciones porcinas (Done, 1996). Por lo tanto estudios sobre la duración de la infección son muy importantes para el entendimiento de la dinámica de la enfermedad y por consiguiente para el diseño de estrategias de control y eliminación del agente. Estudios previos sobre este tema han indicado que las lesiones desaparecen de 8 a 12 semanas y que los signos clínicos pueden desaparecer alrededor de las 10 semanas después de la infección (Kobish, 1993; Sorensen, 1997). El agente se ha aislado de pulmones hasta 85 días después del desafío (Feentra, 1993). Utilizando la técnica de inmunofluorescencia se ha reportado la detección del agente hasta 119 días post-infección (Kobish, 1993). En la actualidad existen pruebas diagnosticas mas sensibles que las utilizadas en los estudios previamente descritos, por lo tanto nuevos estudios enfocados a la duración de la infección de *M. hyopneumoniae* son necesarios para entender mas el papel de la persistencia del agente en las poblaciones crónicamente afectadas.

Recientemente nuestro grupo realizó un estudio con el objeto de determinar la duración de la infección de *M. hyopneumoniae* . En este estudio se demostró que la duración de la infección es más prolongada de lo que anteriormente se había documentado, encontrando alta prevalencia del agente hasta 185 días después de la infección. La técnica de diagnostico utilizada fue un PCR anidado desarrollado en nuestro laboratorio

(Calsamiglia, 1999) y las muestras consistieron en hisopos nasales y bronquiales. El estudio fue enfocado a determinar la duración de la infección del agente, mas no se determinó el papel de estos animales persistentemente infectados en la diseminación del agente. Actualmente en nuestro grupo se realiza un estudio que determinará si los portadores crónicos asintomáticos (más de 200 días post-infección) son capaces de transmitir el agente a animales susceptibles, con el fin de generar información aplicable a los programas de eliminación de la enfermedad.

Efecto de la prevalencia al destete sobre el subsiguiente status de *M. hyopneumoniae* en el grupo

En los últimos años se ha manejado la hipótesis de que la severidad de la enfermedad respiratoria causada y desencadenada por *M. hyopneumoniae* esta asociada a la proporción de animales infectados con dicho agente al momento del destete, asumiendo que a mayor prevalencia al destete, mayo impacto clínico durante la las fases de crecimiento. Esta teoría nace de la observación de casos de campo principalmente en sistemas de producción segregada, donde con frecuencia se observan marcadas diferencias en la severidad de la presentación clínica en la fase de engorda o finalizado. En general estos grupos se manejan con flujo todo-dentro todo-fuera, asumiendo que la principal fuente de infección del grupo es la que se tiene como consecuencia de la trasmisión de tipo vertical. Por lo tanto podemos pensar que esta fuente de infección es variable entre los diferentes grupos de producción.

Sin embargo, no hay estudios que soporten esta teoría desde el punto de vista epidemiológico y tampoco hay información que ayude a estimar cuales serian los niveles de prevalencia que determinarían la severidad de la enfermedad. Por lo tanto, información referente a este tema es necesaria para determinar si estrategias enfocadas a la reducción de la transmisión de tipo vertical son necesarias y si su implementación es justificable. Recientemente nuestro grupo se dio a la tarea de realizar un estudio para probar la hipótesis anteriormente descrita.

Dicho trabajo consintió en un estudio de campo, donde se involucraron 3 diferentes hatos reproductores (Sitios 1), pertenecientes a la misma compañía, los cuales fueron seleccionados en base a la prevalencia de *M. hyopneumoniae* en la progenie al momento del destete. Cada hato reproductor seleccionado forma parte de su respectivo sistema de producción en sitios múltiples. En total 20 grupos de producción semanal provenientes de los 3 hatos reproductores fueron evaluados, el flujo animal de estos grupos fue el mismo, así como los programas de manejo y medicina preventiva. La prevalencia al destete fue calculada en cada uno de los grupos, utilizando un tamaño de muestra adecuado según especificaciones estadísticas. La identificación del agente fue por medio de la técnica de PCR anidado en hisopos nasales. Todos los grupos fueron seguidos hasta el matadero, donde los mismos animales utilizados para determinar la prevalencia inicial fueron evaluados para determinar la severidad y frecuencia de lesiones de cada grupo involucrado. Por otra parte también se determinó la prevalencia final por medio de muestras bronquiales (PCR) y valores serológicos (Tween 20).

Los resultados mostraron un amplio rango entre las prevalencias al destete de los 20 grupos involucrados (Figura 2), incluso esta variación fue muy marcada entre grupos provenientes del mismo hato reproductor. Esta información soporta nuestra teoría a cerca de la variabilidad en la tasa de transmisión vertical en los hatos de hembras. El análisis de la información indicó que en los grupos evaluados hubo evidencia de asociación entre la prevalencia al destete (variable independiente) y las variables consideradas como dependientes (Tabla 1). En conclusión, en base a los resultados obtenidos, podemos asumir que la prevalencia al destete juega un papel importante en la presentación clínica de la enfermedad en la fase de engorda. Esta información también puede ser tomada como evidencia de que el control de la enfermedad en los cerdos en crecimiento puede ser logrado y/o apoyado mediante la reducción de la tasa de transmisión vertical. Lo anterior principalmente aplica a sistemas de producción segregada que mantengan el flujo de los animales mediante el esquema de todo dentro-todo fuera.

Figura 2. Prevalencia de *M. hyopneumoniae* en lechones al destete en los 20 grupos de producción involucrados en el estudio. Prevalencia inicial

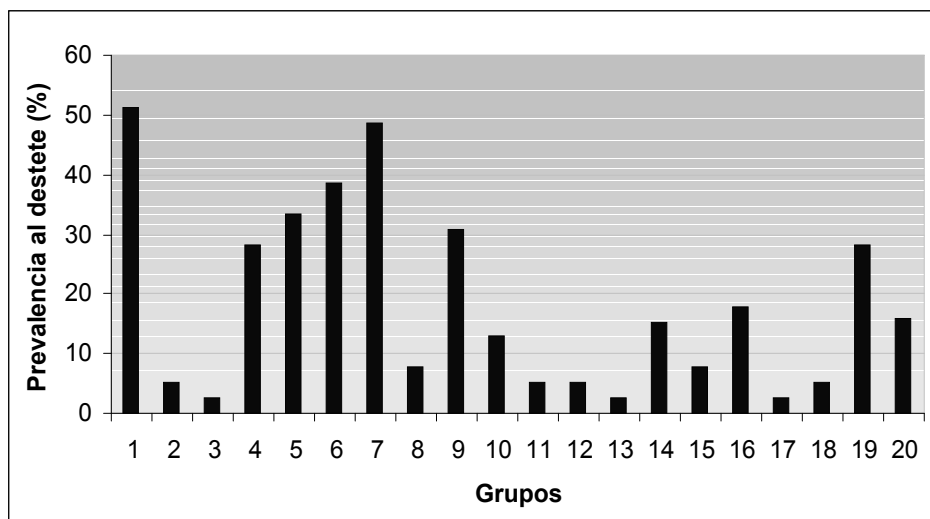


Tabla 1. Resultados del análisis de correlación entre la variable independiente “prevalencia al destete” y las variables dependientes consideradas en este estudio.

Variable Dependiente	r ²	P-Value
Lesiones neumónicas (frecuencia)	.6448 (correlación positiva)	.0001
Lesiones neumónicas (severidad)	.5304 (correlación positiva)	.0009
Respuesta serológica	.5079 (correlación positiva)	.0009
Prevalencia final (PCR bronquiales)	.5455 (correlación positiva)	.0007

Referencias

1. Calsamiglia M, et al. 1999. *Vet Diagn Invest* 11:246-251
2. Desrosiers R. 2001. *JSWP* 9(5):233-237
3. Done S. 1996. *The Pig Journal*:40-61
4. Fano E, et al. *Vet Rec* (aceptado para publicación)
5. Fano E, et al. *CJVR* (aceptado para publicación)
6. Feentra A, et al. 1994. *Prco. 13th IPVS, Thailand.*
7. Goodwing R. 1984. *Vet Rec* 115(13):320-324
8. Goodwing R. 1985. *Vet Rec* 11:690-694
9. Kobish M, et al. 1993. *Vet Res* 24:67-77
10. Sitjar M, et al. 1996. *JSWP* 4(6):273-277
11. Sorensen V, et al. 1997. *Vet Microbiol* 54:23-34
12. Vicca J, et al. 2003. *Vet Mic* 177-190