

La investigación en la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán: Influencia de Carlos Pijoan.

M.V.Z., M. en C., Dr. Abel Ciprian Carrasco y Q.F.B., M. en C., Dr Susana Mendoza Elvira.

Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, UNAM. Secretaria de Estudios de Posgrado. Programa de Posgrado en Producción y Salud Animal. Correo electrónico: mvzabelciprian@hotmail.com

En la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, UNAM (FES-Cuautitlán), se realizó recientemente una ceremonia *in memoriam* de Dr. Carlos Pijoan Aguadé, en dicho acto la Directora de la Facultad Dra. Suemi Rodríguez Romo se refirió a Carlos “como una persona de carácter fuerte, firme, seguro de si mismo, que tenía sus objetivos y metas claras y solamente una persona así fue capaz de imprimir entusiasmo y permitir que tanta gente lo siguiera en el desarrollo de su trabajo y su actividad académica, solo una persona así pudo tener amigos de tanta calidad humana y académica y alcanzar la cantidad de metas que logró”, así mismo menciona “formar una escuela no es tarea fácil y no hay reglas para hacerlo; uno puede publicar muchos artículos, tener muchos estudiantes y reconocimiento de los contemporáneos pero aun así no hacer escuela; el Doctor Pijoan lo hizo a través de su investigación, como docente y desde un punto de vista bastante amplio en la vida cotidiana, con sus compañeros y amigos, eso lo hizo especialmente importante”; además “analizando a todas las personas que conozco y que tuvieron el beneficio de colaborar con él, puedo darme cuenta que el Doctor Pijoan fue un líder que agrupo gente de muy diversas características, con habilidades distintas, de estratos socioculturales diferentes, con ideologías y puntos de vista en ocasiones opuestos y a quienes logró imprimirles el amor al trabajo en un grupo unido, donde todos encontraron la satisfacción de realizar una labor y la posibilidad de crecer y superarse” (Bolaños, 2007).

I. Antecedentes.

El desarrollo de las Ciencias Microbiológicas en nuestro país ha sido en general lento. Solo la creación de algunas escuelas dedicadas al estudio de estas disciplinas ha logrado evitar nuestra total dependencia tecnológica en esta área. Aún así, en la actualidad la mayoría de la industria farmacéutica encargada de la elaboración de biológicos esta en manos de compañías extranjeras. De hecho, los centros educativos han logrado incidir en cuanto a medicina humana, fundamentalmente en el área del análisis clínico microbiológico y en aspectos de higiene y salud pública. Los importantes campos de la industria farmacéutica de biológicos, así como de la microbiología industrial, son pocos estudiados y carecen en general de una tecnología propia.

En el campo de la Medicina Veterinaria, el problema es mas grande, pues se carece aún de la tecnología moderna que permite identificar con precisión los patógenos de importancia nacional. En este campo, la producción de biológicos es de calidad desigual, debida entre otras razones a la falta de una reglamentación competente; así como el mantener una vigilancia para que dicha reglamentación se cumpla. En particular,

mencionaremos que se carece de estudios precisos sobre la incidencia de las enfermedades mas comunes de los animales los agentes etiológicos involucrados y otros factores condicionantes de las mismas. En la mayoría de los casos desconocemos si los biológicos importados (ó producidos en México con cepas de otros países) son eficaces en la prevención de las enzootias y epizootias que afectan a nuestros animales. Como puede observarse, la Microbiología en México tiene aún grandes problemas que resolver, sobretodo los de índole aplicada.

La Microbiología en la UNAM: Del punto anterior puede observarse que existen en nuestro país graves problemas de tipo sanitario, que la investigación y formación de investigadores en el área de Microbiología podría ayudar a resolver, Sin embargo, la participación de la UNAM en la investigación microbiológica en lo general, y en microbiología aplicada en particular, es aparentemente insuficiente. La información aportada por los Anuarios de la UNAM de los años 70's revelan que solo el 17.3% fueron de temas biológicos y solo de este porcentaje el 12.3 tocaron temas microbiológicos y de estas investigaciones mas de la mitad fueron de índole aplicada. Es claro también que la falta de investigación en el área es reflejo en parte, de la falta de personal técnico de alto nivel especializado en el área de la Microbiología.

La Microbiología en la FES-Cuautitlán: Desde sus orígenes la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, se ha preocupado por desarrollar un grupo multidisciplinario en el área de la Microbiología. Dicho grupo ha recibido el apoyo entusiasta de la Dirección de la Escuela, lo que le ha permitido una amplia expansión dentro de las posibilidades de la institución. El grupo cuenta actualmente con profesores-investigadores de tiempo completo. Estos pertenecen a las mas diversas profesiones, encontrándose entre ellos: Bioquímicos, Médicos veterinarios Microbiólogos, Químico Farmacéuticos Biólogos, Químicos Bacteriólogos Parasitólogos, Químicos Farmacéuticos Industriales y Químicos. Este personal está involucrado en la enseñanza de la Microbiología y áreas afines tantas a nivel de Licenciatura como de Posgrado, además de sus labores de investigación, ya que es deseable que estas actividades se desarrollen independientemente. (Pijoan, Posgrado en Microbiología 1980).

Este proyecto de estudios de Posgrado en Microbiología (Especialidad, Maestría y Doctorado) fue aprobado por el Consejo Universitario en Junio de 1980 y la entonces Escuela Nacional de Estudios profesionales Cuautitlán (ENEP-Cuautitlán) se transforma en Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán (FES-Cuautitlán) a seis años de haberse iniciado los estudios de licenciatura en muchas áreas y a cuatro años de haberse iniciado los estudios de Posgrado con la Maestría en Microbiología Veterinaria (bajo la tutela del Dr. Carlos Pijoan Aguadé); Nutrición Animal (bajo la tutela del Dr. Armando Shimada M.) y Reproducción Animal (bajo la tutela del Dr. Everardo González Padilla). Mientras el grupo de profesores-investigadores multidisciplinarios fortalecían la línea de investigación de las Afecciones Respiratorias del Cerdo.

Hoy en día no se puede conceptuar la investigación sin estudios de Posgrado y este espíritu universitario es la esencia para el avance de la ciencia, en particular el grupo que se quedo en la FES-Cuautitlán seguimos la misma línea de investigación "Afecciones del Tacto Respiratorio del Cerdo", línea que nos fue planteada desde los inicios de la ENEP-

Cuautitlán y a más de 30 años la hemos seguido y fortalecido, en donde se han formado tanto profesionistas como estudiantes de Posgrado.

II. Introducción.

En las afecciones respiratorias del cerdo se consideran dos áreas en donde los microorganismos producen daño. En la parte anterior encontramos a la cavidad nasal y los cornetes nasales y en la patogenia de la Rinitis Atrófica se involucran el virus que produce cuerpos de inclusión (Herpesvirus); se ha encontrado al *Mycoplasma hyorhinis* y a dos bacterias muy importantes: *Bordetella bronchiseptica* y *Pasteurella multocida*. En el caso de la región posterior encontramos las neumonías, en ella participan muchos agentes infecciosos, como es el caso de los virus: Adenovirus porcinos; Enterovirus porcinos; Virus vacunal de la Fiebre Porcina Clásica; virus de la Enfermedad de Aujeszky; Influenza porcina; Paramyxovirus porcino; Coronavirus respiratorios porcinos; Síndrome Respiratorio Reproductor Porcino; Enfermedad del Circovirus porcino tipo 2. Se han encontrado varios micoplasmas y el más importante que contribuye al Complejo Respiratorio Porcino es *Mycoplasma hyopneumoniae*, sin embargo se han encontrado algunas cepas de *Acholeplasma laidlawii* patógenas. En el caso de las bacterias encontramos una gama muy variada en donde algunas actúan como agentes primarios como *Actinobacillus pleuropneumoniae*; otras como agentes secundarios en donde *Pasteurella multocida* es la comúnmente aislada y *Haemophilus parasuis* en problemas de serosas y meningitis serían los importantes. Otros agentes bacterianos como el *Streptococcus suis* tipo 2 están involucrados en problemas nerviosos y neumónicos. También se debe de considerar a *Salmonella choleraesuis*.

III. Estudios de las asociaciones de bacterias en la Rinitis Atrófica

La Rinitis Atrófica (RA) es una enfermedad infecciosa y contagiosa, ampliamente distribuida en la población porcina caracterizada por atrofia en los cornetes nasales o el hueso máxilar. Se han realizado muchas investigaciones dirigidas a la definición precisa del o los agentes microbiológicos responsables de la RA. Mientras algunos factores pueden influir la severidad y expresión clínica de la enfermedad. Se ha establecido que la condición primaria es de carácter infeccioso, más que un desorden nutricional. Se ha señalado la posible asociación con agentes infecciosos, sin embargo, solo dos bacterias han sido consideradas de importancia que son *Pasteurella multocida* y *Bordetella bronchiseptica*, con las que se ha podido desarrollar la atrofia experimental de los cornetes nasales de cerdo y ratón, cuando han sido inoculados cultivos puros por vía intranasal. La RA se ha asociado a la toxinas de *P. multocida* y *B. bronchiseptica* reportadas como responsables del cuadro rinítico. Recientemente se han encontrado en *P. multocida* tipo "D" y *B. bronchiseptica* la producción de dermonecrotinas capaces de producir lesiones severas en los cornetes nasales. Las cepas de *P. multocida* tipo "D" que producen la dermonecrotina DNT(+), colonizan la nariz de cerdos inoculados con *B. bronchiseptica* por tiempos prolongados. La inoculación intranasal de la toxina de *P. multocida* en cerdos gnótopicos, ha provocado

la atrofia marcada de los cornetes (De Jong, 1980; Martineau *et al.*, 1982; Rutter 1983; Pijoan *et al.*, 1988).

Los autores que han trabajado la hipótesis sobre la atrofia progresiva, sugiriendo que el daño inicial de la mucosa nasal en cerdos jóvenes es provocada por *B. bronchiseptica*, en adición a los irritantes que se encuentran en el medio ambiente u otras infecciones y que las toxinas de *P. multocida* agravan el cuadro.

1. Estudio de las toxinas de *Bordetella bronchiseptica* y *Pasteurella multocida* en la Patogenia de la Rinitis Atrófica del Cerdo y evaluación de un método de desafío por aerosoles.

En este estudio se determinó la patogenicidad de cepas de campo de *Bordetella bronchiseptica* y de *Pasteurella multocida* aisladas de 41 cerdos con cuadro clínico de Rinitis Atrófica e identificadas por pruebas bioquímicas. En 20 de los casos se aisló *B. bronchiseptica*; en 3 *P. multocida* y en 18 cerdos no hubo aislamientos. Las tres cepas de *P. multocida* correspondieron al tipo "D". Todas las cepas de *P. multocida* y *B. bronchiseptica* resultaron ser productoras de dermonecrotina. La acción de la dermonecrotina de *P. multocida* y *B. bronchiseptica* fue demostrada por endurecimiento de la piel de cuye (IPC); muerte en ratón lactante (MRL) y atrofia del bazo en ratón (ABR). Con IPC resultaron positivas 12/20 de *B. bronchiseptica* y 2/3 de *P. multocida*; con MRL resultaron positivos 15/20 de *B. bronchiseptica* y 2/3 de *P. multocida* y con ABR 17/20 con *B. bronchiseptica* y 3/3 con *P. multocida*. Se seleccionaron dos cepas de *B. bronchiseptica* (cepa 4 patógena y 15b apatógena) y dos de *P. multocida* (Vc patógena y 9ª apatógena) para identificar la presencia de plásmidos y solo la cepa vc de *P. multocida* presentó un plásmido de 5.2 kb.

El estudio de citotoxicidad en cultivos celulares de estas mismas cepas mostró que solo la cepa 4 de *B. bronchiseptica* produjo un marcado efecto citopático en la línea celular MDBK, moderado en la línea VERO y leve en la línea PK-15. El estudio de infección en ratones por medio de una cámara de aerosoles, mostró que la inoculación por nebulización de 5×10^{10} Unidades Formadoras de Colonias (UFC) con la cepa 4 de *B. bronchiseptica* no fue capaz de producir ninguna lesión en los cornetes nasales. La remoción de la bacteria de los pulmones presentó 4 fases dependientes del tiempo: una de crecimiento rápido; una disminución; un aumento ligero con fase estacionaria y finalmente un descenso del número de bacterias en los últimos días. La baja de peso en los ratones infectados fue significativa, además se presentó una alta mortalidad de los animales en el transcurso del experimento. (Mendoza, 1989)

2. Interacción entre *Bordetella bronchiseptica* y *Pasteurella multocida* en la Rinitis Atrófica empleando un modelo experimental de infección por aerosoles en ratón.

Utilizando el mismo modelo de infección en ratones por medio de la cámara de aerosoles, se analizó la interacción entre estas dos bacterias, para ello en un modelo

experimental conformado por cuatro grupos de 20 ratones cada uno, los cuales fueron clasificados como: Grupo I: Ratones Testigo; Grupo II: Ratones aerosolizados con *B. bronchiseptica*; Grupo III: Ratones aerosolizados con *P. multocida* y Grupo IV: Ratones aerosolizados con *B. bronchiseptica* cuatro días después con *P. multocida*.

De cada grupo experimental se sacrificaron 4 ratones los días 0, 2, 4, 8 y 16 post-inoculación, para determinar el desarrollo de la enfermedad mediante los parámetros de remoción – retención en los pulmones de las bacterias y las lesiones histopatológicas encontradas en los cornetes nasales.

En el Grupo I, no se aislaron bacterias y no se encontraron lesiones microscópicas. En el Grupo II, se encontró un aumento en las UFC de *B. bronchiseptica*, indicando que la bacteria colonizo el epitelio nasal y no se removió de la zona, se observaron daños transitorios del epitelio nasal. En el Grupo III, se observo la colonización y multiplicación de *P. multocida* en los cornetes nasales pero menor a lo ocurrido con *B. bronchiseptica*, sin embargo las lesiones histopatológicas fueron mas severas y de tipo progresivo. En el Grupo IV aerosolizado con ambas bacterias se encontró un efecto interactivo de *P. multocida* tanto a nivel de cuenta bacteriana como del daño producido, esto al día 2 post-inoculación, se observo un aumento de las UFC de *P. multocida* y a nivel microscópico se observaron desde el inicio del desafío has el día 16 post-inoculación y fueron lesiones mas severas y de tipo permanente. (López, 1993)

IV. Estudios de las asociaciones de virus con bacterias en el Complejo Respiratorio Porcino.

Las enfermedades vírales son importantes en las infecciones secundarias bacterianas, sobretodo en las involucradas con el aparato respiratorio; tales afecciones están bien documentadas tanto en el hombre como en los animales domésticos. La idea de que pudiera existir una cooperación entre virus y bacterias en las neumonías fue conceptuada a raíz de las pandemias de influenza humana, ocurridas durante el siglo pasado. Aún hoy en día, la neumonía por agentes bacterianos secundarios es una de las complicaciones en los procesos neumónicos del cerdo. El problema respiratorio porcino, hoy en día se le conoce como el Complejo Respiratorio Porcino (CRP), y se le considera así, por la gran variedad de agentes infecciosos que se involucran en el proceso neumónico. Sin embargo, existen una serie de trabajos clásicos, realizados por nuestro grupo que han demostrado la participación de virus con virus, de virus con bacterias, de micoplasmas con bacterias y de bacterias con bacterias, en donde actúan en forma sinérgica o interactúan en ellos. De igual manera sabemos que existen agentes patógenos primarios (agentes colonizadores tempranos) y secundarios u oportunistas (agentes colonizadores tardíos), de reciente aparición, por los sistemas de producción porcina (cerdos en explotaciones de alta salud en varios sitios) que han complicado el problema neumónico aparentemente resuelto (en cerdos de explotaciones convencionales), de ahí la necesidad de seguir trabajando en las interacciones o sinergias entre diversos agentes infecciosos (Amass, 1998; Ciprián, 1999).

1. Fiebre Porcina Clásica y *Pasteurella multocida*.

La primera comprobación de una bacteria, que *per se* no provoca daño alguno y que interactúa con un virus en el proceso neumónico del cerdo fue realizado en la FES-Cuautitlán UNAM, donde se demostró una marcada sinergia entre el virus vacunal (Cepa China) de la Fiebre Porcina Clásica (antes Cólera Porcino) y *Pasteurella multocida* (Pijoan y Ochoa 1978; Pijoan *et al.*, 1980).

A partir de este hallazgo, hemos venido realizando y comprobando desde hace más de 25 años, la acción de patógenos primarios y la invasión de agentes oportunistas en el fenómeno de interacción y sinergia que ocurre entre virus y bacterias y bacterias con bacterias en el “Complejo Respiratorio Porcino”, lo que ha permitido entender mejor el problema, y así poder dar soluciones a la industria porcina.

2. Virus de la Enfermedad de Aujeszky (VEA) y *Pasteurella multocida*.

En un estudio de rastro, de los casos neumónicos en un 67% se observó serología positiva al VEA, mientras que en los casos normales sólo en un 32%. De los pulmones neumónicos, en un 51% se aisló algún tipo de *Pasteurella*; de los normales sólo en un 9%. Con base en estos trabajos se desarrolló un experimento con cerdos convencionales, previamente vacunados con una cepa inactivada del virus de la enfermedad de Aujeszky, considerando como parámetro principal la remoción pulmonar de *P. multocida* a diferentes días posdesafío con una cepa virulenta del virus de la enfermedad de Aujeszky. Se encontró que el virus afecta la remoción pulmonar de la bacteria a partir del día 7 al 15 posinfección. Estos resultados apoyaron la hipótesis de que el virus de la enfermedad de Aujeszky estaba involucrado como agente primario en la pasteurelisis pulmonar del cerdo (Badiola y Pujols, 1984).

3. Efecto del virus de Aujeszky sobre la remoción pulmonar de *Pasteurella multocida* en cerdos de engorda.

La interacción de uno más agentes etiológicos para ser la hipótesis más certera para explicar la elevada incidencia y persistencia de las neumonías en las granjas porcícolas. En este trabajo se demostró la interacción entre el virus de Aujeszky y *Pasteurella multocida*, mediante la inoculación de la bacteria por aerosoles. En este sentido dos experimentos fueron conducidos secuencialmente; el primero consistió en determinar el patrón de remoción pulmonar de la bacteria bajo condiciones normales de salud del cerdo; el segundo experimento consideró el efecto de la infección de los cerdos con el virus de Aujeszky sobre la eliminación bacteriana del pulmón. La remoción pulmonar de la bacteria se llevó a cabo con patrón progresivo “menos bacterias a mayor tiempo”. No se encontraron diferencias significativas entre el pulmón izquierdo y el derecho, ni entre los lóbulos, y si hubo diferencias entre el número de bacterias depositadas a las 0 horas y las recuperadas a las 8 y 30 horas. En los cerdos infectados previamente con el virus de Aujeszky hubo una marcada disminución de la eliminación bacteriana del pulmón a los 7 días y en menor grado a los 13 y 15 días respectivamente después de la infección viral. También se encontró que la retención bacteriana al séptimo día posinfección viral y fue significativamente mayor

en los lóbulos apicales que en los lóbulos cardiacos y diafragmáticos entre los cuales no hubo diferencias. En el experimento de la remoción pulmonar de la bacteria no se observaron lesiones anatomopatológicas en pulmón. Sin embargo, en el segundo experimento se observaron lesiones microscópicas leves que consistieron en congestión y consolidación en los lóbulos apicales y cardiacos, principalmente en los 3ero y 7º. Días posinfección viral. Microscópicamente la lesión mas sobresaliente fue una bronconeumonía exudativa con predominio de leucocitos. Por otro lado, estos animales presentaron signos respiratorios, leves de corta duración y una respuesta de anticuerpos virus-neutralizantes moderada (Caballero, 1885).

4. Fiebre Porcina Clásica y *Actinobacillus pleuropneumoniae*.

Con los antecedentes anteriores se encontraron evidencias clínicas y de aislamiento de *Actinobacillus pleuropneumoniae*, que la PCP se exacerbo cuando se importaron cerdas de reemplazo de EU, y que venían como portadores de *Actinobacillus pleuropneumoniae*, pero libres de Fiebre Porcina Clásica (FPC), y ya en el destino final de la granja, cuando se vacunaron contra la FPC, ocurrieron brotes de PCP agudo, en donde el serotipo de *Actinobacillus pleuropneumoniae* predominante fue el 1 (Ciprián *et al.*, 1996).

5. Virus de la Enfermedad de Aujeszky (VEA) y *Actinobacillus pleuropneumoniae*.

También hemos demostrado con el modelo experimental de aerosoles que el VEA interactúa con la PCP. Las evidencias encontradas muestran que la vacunación contra el VEA no fue capaz de prevenir la multiplicación del virus en el tracto respiratorio, ya que una dosis mínima de *Actinobacillus pleuropneumoniae* serotipo 1 fue suficiente para colonizar y matar a todos los cerdos del experimento, por lo que consideramos que existió una sinergia entre el VEA y el actinobacilo. Probablemente este sucediendo lo mismo en el campo, dado que después de presentarse la enfermedad de Aujeszky, aparece la PCP en forma epizootica (Falcón *et al.*, 1987; Tenorio *et al.*, 1987)

6. Virus del Paramyxovirus porcino y *Actinobacillus pleuropneumoniae*.

Por otro lado, en un diseño experimental con cerdos y empleando la cámara de nebulización, no se pudo demostrar la interacción o sinergia entre el virus del Paramyxovirus porcino y *Pasteurella multocida*, así como con *Actinobacillus pleuropneumoniae* serotipo 1, en cerdos convencionales y en condiciones controladas (García *et al.*, 1988; Torres *et al.*, 1996).

7. *Mycoplasma hyopneumoniae* y *Pasteurella multocida*.

Infección experimental de cerdos convencionales con *Mycoplasma hyopneumoniae* y *Pasteurella multocida*. En esta investigación realizada por nuestro grupo se valoró esta infección de la siguiente manera : Se formaron cuatro grupos de cuatro cerdos cada uno: I testigo, II inoculado solamente con *M. hyopneumoniae*, III inoculado solamente con *P. multocida* y IV inoculado primero con *M. hyopneumoniae* y después con *P. multocida* empleando el modelo de aerosoles. En los cerdos del grupo IV inoculado con ambos

agentes se agravó y se prolongó la hipertermia, presentaron tos y disnea de mayor severidad y con signos de agravamiento, las lesiones macroscópicas abarcaron del 22 al 26% y fueron de tipo exudativo, se recuperó *M. hyopneumoniae* de todos los pulmones y solo se recuperó en tres animales *P. multocida*, 13 días después de inoculada, cuyos pulmones estaban previamente infectados con el micoplasma y no fueron capaces de eliminar a *Pasteurella*. Los grupos mostraron índices de crecimiento similares en la ganancia diaria de peso, sin embargo en el grupo inoculado con ambos agentes el consumo de alimento fue mayor (Ciprián *et al.*, 1988).

8. *Mycoplasma hyopneumoniae* ó *Mycoplasma hyorhinis* y *Haemophilus parasuis*.

La infección experimental de cerdos convencionales con *Mycoplasma hyopneumoniae* y/o *Mycoplasma hyorhinis* y/o *Haemophilus parasuis* se realizó con diseño que empleo cerdos convencionales, en donde se utilizaron lechones procedentes de una granja seronegativa a PRRSv, VEA, Enfermedad del Paramyxovirus porcino, *Actinobacillus pleuropneumoniae*, *Mycoplasma hyopneumoniae* y *Haemophilus parasuis*. Los grupos de cerdos fueron desafiados con con *Mycoplasma hyopneumoniae* y/o *Mycoplasma hyorhinis* y/o *Haemophilus parasuis*. Posteriormente cuando los cerdos presentaron los signos característicos de la infección, los cerdos fueron sacrificados y se evaluaron las lesiones macroscópicas. Las lesiones encontradas a la necropsia fueron recopiladas para la realización de la planimetría (Ciprián *et al.*, 1988). Por los datos obtenidos en este experimento en el que se determinó el grado de lesión pulmonar, análisis de los signos clínicos, lesiones macroscópicas, lesiones microscópicas, recuperación de los agentes inoculados, serología, las conclusiones sugirieron altamente una interacción entre *Mycoplasma hyorhinis* y *Haemophilus parasuis* y no así, con *Mycoplasma hyopneumoniae* y *Haemophilus parasuis* (Lara *et al.*, 1996 a; Lara *et al.*, 1996 b)

9. PRRSv y *Streptococcus suis*, ó *Haemophilus parasuis* ó *Pasteurella multocida*.

También otros grupos de investigación, principalmente con el Dr. Pijoan en la Universidad de Minnesota han trabajado en las diferentes interacciones y sinergias que se pueden presentar entre estos agentes, demostrando así que existe una interacción entre el virus de PRRSv y el *Streptococcus suis*, en donde en contraste con la interacción producida entre el Virus de la Enfermedad de Aujeszky, en el vPRRS, se observa una activación posfagocítica del macrófago por el PRRSv. Esto sugiere que el mecanismo de acción de este virus no es sobre células fagocíticas. Se debe a la destrucción del epitelio nasotraqueal, con la consiguiente respuesta inflamatoria y la migración de células fagocíticas al sitio. Esto resulta en la diseminación del *Streptococcus suis*, ya que se demostró que las cepas virulentas del *Streptococcus suis* pueden sobrevivir dentro de los macrófagos. Esta falta de inmunosupresión local aunada a una intensa inmunoestimulación sistémica, puede explicar en parte el por que no se ha podido demostrar la interacción *in vivo* entre PRRSv y *Haemophilus parasuis* y PRRSv y *Pasteurella multocida*.

Al igual que en *Streptococcus suis* la infección de macrófagos por PRRSv resulto en un aumento de su capacidad de digestión de *Haemophilus parasuis* fagocitados, resultando

en una reducción de lesiones de poliserositis en animales previamente infectados con PRRSv (Galina, *et al.*, 1994 a; Galina *et al.*, 1994 b; Solano, *et al.*, 1997).

10. Asociación entre *Mycoplasma hyopneumoniae* y el virus PRRS en las neumonías del cerdo.

Mycoplasma hyopneumoniae juega un importante papel y central en el Complejo Respiratorio Porcino y probablemente estén participando otros agentes virales en las granjas de alta salud. Para ello se realizó un estudio sobre la asociación entre *Mycoplasma hyopneumoniae* y el virus PRRS en las neumonías del cerdo. Se utilizaron 20 cerdos convencionales libres de anticuerpos contra *M. hyopneumoniae*; vPRRS, *Actinobacillus pleuropneumoniae* y enfermedad de Aujeszky. El diseño experimental se realizó con cuatro grupos experimentales. Los grupos estuvieron conformados por 5 cerdos cada uno y se inocularon en el día 1 por vía intratraqueal (IT) o vía intramuscular (IM): Grupo I: Medio de Friis por vía IT; Grupo II: homogeneizado pulmonar con 10^4 Unidades Cambiantes de Color (UCC) de *M. hyopneumoniae* por vía IT; Grupo III: Suero con lecturas S/P elevadas por ELISA y filtrado con membranas Millipore de $0.22 \mu\text{m}$ de diámetro por vía IM y Grupo IV: Homogeneizado pulmonar con 10^4 Unidades Cambiantes de Color (UCC) de *M. hyopneumoniae* por vía IT y suero con lecturas S/P elevadas por ELISA y filtrado con membranas Millipore de $0.22 \mu\text{m}$ de diámetro por vía IM. Diariamente se observaron los signos clínicos respiratorios, se les determinó la temperatura corporal y el peso de cada uno de los animales para medir la Ganancia Diaria de Peso (GDP) y conversión alimenticia (CA). Así mismo se tomaron muestras sanguíneas para estudios serológicos por ELISA contra y PRRS. Algunos cerdos en el día 17 post-inoculación empezaron a tener hipertermia y signos respiratorios y en el día 21 los presentaron todos los animales, ese fue el día del sacrificio de todos los animales. A la necropsia se les determinaron las lesiones neumónicas y se tomaron muestras para estudios de inmunofluorescencia directa (IFD) contra *M. hyopneumoniae*. No se encontraron lesiones neumónicas en los cerdos del Grupo I, fueron negativos a la IFD y la GDP fue de 0.39 ± 0.034 y la CA de 2.93 kg. En los animales del Grupo II fueron positivos a IFD, el grado de lesión neumónica fue del 12.6%, la GDP de 0.180 ± 0.092 y la CA de 4.98 kg. Los cerdos del Grupo III fueron negativos a la IFD y positivos a ELISA/PRRS, el grado de lesión neumónica fue de 12.9%, la GDP de 0.209 ± 0.087 y la CA de 3.25 kg. En los cerdos del Grupo IV fueron positivos a IFD y a ELISA/PRRS, el grado de lesión neumónica fue de 11.8%, la GDP fue de 0.250 ± 0.06 y la CA de 3.94 kg. No se encontraron diferencias entre los Grupos II, III y IV que permitieran evaluar la sinergia o interacción en *M. hyopneumoniae* y el vPRRS (Colmenares *et al.*, 2001)

11. Efecto de la vacunación con la cepa PAV-250 de virus de la Fiebre Porcina Clásica (FPC) sobre la transmisión aérea del virus de la FPC.

En este estudio se investigó la transmisión aérea del virus de la FPC a cerdos susceptibles, así como su efecto en cerdos vacunados con la cepa PAV-250 y desafiada con la FPC. Para ello se llevaron dos experimentos: Experimento I, cuatro cerdos fueron

inoculados con la cepa de referencia del virus de la FPC ($10^{4.5}$ 50% TCID) por vía intramuscular y cuando presentaron hipertermia o fiebre fueron introducidos en una cámara cerrada. Al final del experimento los animales fueron sedados, anestesiados y sacrificados. Experimento II, cuatro cerdos fueron previamente vacunados con la cepa PAV-250 y al día 14 post-vacunación fueron desafiados con el virus de la FPC referencia ALD. En ambos experimentos cuatro cerdos susceptibles fueron expuestos a un aerosol infeccioso por medio de un ducto que conectaba a otra cámara adyacente en donde estaba los cuatro cerdos infectados y estuvieron alojados durante 86 horas. En el experimento I, los cerdos expuestos al aire contaminado murieron como un resultado de la infección con el virus de la FPC en el día 14, 21 y 28 post-inhalación. Los cuatro cerdos seroconvirtieron desde el día 21 pos-inhalación, el virus fue aislado de esos animales y la prueba de anticuerpos fluorescentes fue positiva en la tonsilas. En el experimento II, un cerdo expuesto al aire contaminado no seroconvirtió, no se aisló el virus de la FPC de los tejidos linfoides. Sin embargo, se observó fluorescencia débil en los cortes de tonsila. En conclusión, se demostró que el virus de la FPC se transmitió por el aire a una distancia de un metro en cerdos susceptibles. La vacunación con la cepa PAV-250 del virus de la FPC protegió a los cerdos de la enfermedad clínica bajo las mismas condiciones (González *et al.*, 2001)

V. Referencias

Amass, S. (1998). Swine Respiratory Diseases: A Review. Y The Effect of Wean Age on Pathogen Removal. Memorias del VII Día del Porcicultor 1998. Asociación de Médicos Veterinarios Zootecnistas Especialistas en Ciencias Porcícolas del Sur de Sonora, A.C., Navojoa, Sonora, México. 1998. Pp 6-20.

Badiola, S.J.I. y Pujols, R.J. (1984). Estudios sobre la interacción del virus de Aujeszky con *Pasteurella multocida* en los procesos neumónicos del cerdo. Tesis de Maestría. Facultad. de Estudios Superiores Cuautitlán. Universidad Nacional Autónoma de México. Cuautitlán, Izcalli, Edo. de México.

Bolaños, V.J. Doctor Carlos Pijoan Aguadé, *in memoriam*. Comunidad, UNAM, No. 3, febrero 2007, octava época Vol. 2. Pags. 2-4.

Caballero, C.S. (1985). Efecto del virus de Aujeszky sobre la remoción pulmonar de *Pasteurella multocida* en cerdos de engorda. Tesis de Maestría. Facultad. de Estudios Superiores Cuautitlán. Universidad Nacional Autónoma de México. Cuautitlán, Izcalli, Edo. de México.

Ciprián, A., Pijoan, C., Cruz, T., Camacho, J., Tórtora, J., Colmenares, G., Lopez-Revilla, R. and Garza de la, M. (1988). *Mycoplasma hyopneumoniae* increases the susceptibility of pigs to experimental *Pasteurella multocida* pneumonia. Can. J. Vet. Res., 52: 434-438.

Ciprián, C.A. Impacto del diagnóstico serológico de *Actinobacillus pleuropneumoniae* en las diferentes prácticas de destete. (1999). Memorias "Enfermedades Infecciosas en el Cerdo" de la Asociación de Médicos Veterinarios Especialistas en cerdos de los Altos de Jalisco. Enero de 1999. Pags. 28-45.

Colmenares V.G., Mendoza, E.S., Cruz S.T.A., Romero R.A. y Ciprián C. (2001). Asociación entre *Mycoplasma hyopneumoniae* y el virus PRRS en las neumonías del cerdo. Memorias del Congreso XXXVI de la Asociación Mexicana de Veterinarios Especialistas en Cerdos A.C. AMVEC, Querétaro, Querétaro. Pag. 54.

De Jong M.F.; Oel M.L. and Tentenbug G.J. (1980). Atropic Rhinitis patogenicity test for *Pasteurella multocida* isolates. Proceedings Int. Pig. Vet. Soc. Congress 1980; Copenhagen, p.211.

Falcón, N.A., Paz de, V.O., Morales, J., Batalla, C.D., Alvarado, A., Sierra, N., Tórtora, P.J., Mendoza, A.S., Hernández, B.E., Camacho, M.J. y Ciprián, C.A. (1987). Sinergia entre el virus de la pseudorrabia (PRV) y *Haemophilus pleuropneumoniae* en la pleuroneumonía contagiosa. Memorias de la Reunión Anual de Investigación Pecuaria en México en 1987. México, D.F. 1987. 83-84. Secretaria de Agricultura y Recursos Hidraulicos Universidad Nacional Autónoma de México. México, D.F.

García G.J., Camacho M.J., Mendoza E.S., Ciprián C.A., González G.S., Díaz, C. y Stephano, A.H. (1988). Infección experimental con el virus del ojo azul y *Pasteurella multocida* en cerdos convencionales. En Memorias del 23 Congreso de la Asoc. Mex. Vet. Esp. Cerdos, León, México. Pp88-89.

Galina L., Pijoan C., Sitjar M., Christianson, W., Rossow K. and Collins J. (1994 a). Interaction between *Streptococcus suis* serotype 2 and PRRS virus in specific pathogen free piglets. Vet. Rec. 134:60-64.

Galina L., Molitor, T. and Pijoan C. (1994 b). Effect of PRRS virus on the clearance of *Streptococcus suis* serotype 2 by pig alveolar macrophages. Proc. Int. Pig Vet. Soc. Congress. Bangkok. Thailand. P. 142.

González C., Pijoan C., Ciprián A., Correa P. and Mendoza S. (2001). The effect of vaccination with the PAV-250 Strain Classical Swine Fever (CSF) virus on the airborne transmisión of CSF virus. J. Vet. Med. Sci. 63(9):991-996.

Lara P. J. H., Torres M. E., Sánchez A., Tortora J., Cruz A., Mendoza E.S. y Ciprián C. A. (1996a) Desarrollo de un modelo experimental para demostrar la interacción entre *Mycoplasma hyorhinis* y *Haemophilus parasuis*. Memorias del XXXI Congreso de la AMVEC, A.C. Veracruz, Veracruz, p.78.

Lara P. J. H., Torres M. E., Sánchez A., Tortora J., Cruz A., Mendoza E.S. y Ciprián C. A. (1996b). Estudio de la interacción entre *Mycoplasma hyopneumoniae* y *Haemophilus parasuis*. Memorias del XXXI Congreso de la AMVEC, A.C. 1996, Veracruz, Veracruz, p.79.

López Dávalos M.E. (1993). Interacción entre *Bordetella bronchiseptica* y *Pasteurella multocida* en la Rinitis Atrófica, empleando un modelo experimental de infección por aerosoles en ratón. Tesis de Licenciatura. Facultad. de Estudios Superiores Cuautitlán.

Universidad Nacional Autónoma de México. Cuautitlán, Izcalli, Edo. de México.

Martineau G.P., Broes, A., De Jong M.F., Martineau-Roize, B. (1982). Experimental reproduction of atrophic rhinitis with *Pasteurella multocida* on gnotobiotic and conventional piglets. Proc. Int. Pig. Vet. Soc. Cong. México, p.88.

Mendoza Elvira S.E. (1989). Estudio de las toxinas de *Bordetella bronchiseptica* y *Pasteurella multocida* en la patogenia de la Rinitis Atrófica del cerdo. Tesis de Maestría en Ciencias. Facultad. de Estudios Superiores Cuautitlán. Universidad Nacional Autónoma de México. Cuautitlán, Izcalli, Edo. de México.

Pijoan, C. and Ochoa, G. (1978). Interaction between a hog cholera vaccine strain *Pasteurella multocida* in the production of porcine pneumonia. J. comp. Path., 88: 167-170.

Pijoan, C., Campos, M., and Ochoa, G. (1980). Effect of a Hog Cholera Vaccine Strain on the Bactericidal Activity of Porcine Alveolar Macrophages. Rev. Lat. Microbiol. 22 (2); 69-72.

Pijoan C. (1980). Folleto Informativo sobre el Posgrado en Microbiología: Especialización, Maestría y Doctorado en Microbiología. ENEP-Cuautitlán.

Pijoan C., Lastra A., Ramirez C. and Leman A.D. (1984). Isolation of toxigenic strains of *Pasteurella multocida* from lungs of pneumonic swine. JAVMA **185**; (5); 522-523.

Pijoan C., Trigo F. and Hogg A. (1988). Atrophic Rhinitis in pigs associated with a toxigenic strain of *Pasteurella multocida* serotype A. Proceedings Int. Pig Soc. Congress, Brazil p. **32**.

Rutter J. (1983). Virulence of *Pasteurella multocida* in atrophic rhinitis of gnotobiotic pigs infected with bordetella. Res. Vet. Sci. 34;287-295.

Solano, G., Segalés, J., Collins, J.E., Molitor, T.W. and Pijoan, C. (1997). Porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSv) interaction with *Haemophilus parasuis*. Vet. Microbiol. 55; 247-257.

Tenorio, G.V., Falcón, N.A., Ciprián, C.A. y Camacho, M.J. (1987). Memorias de la Reunión Anual de Investigación Pecuaria en México. México, D.F. 1987. pp9. SARH – UNAM. México, D.F.

Torres., M.E., Mendoza, E.S., Tórtora, P.J., Correa, G.P., Lara, H.J.P. Flores, L., García, R. Y Ciprián, C.A. (1996). Efecto del Paramyxovirus porcino en la presentación de la pleuropneumonia contagiosa porcina producida por *Actinobacillus pleuropneumoniae* serotipo 1. Memorias del XXXI Congreso Nacional de la Asociación Mexicana de Veterinarios Especialistas en Cerdos, A.C. (AMVEC). Veracruz, Ver. 1996. Pag. 65.