

AISLAMIENTO DE *Mycoplasma hyorhinis* EN MUESTRAS DE CERDOS CON PROBLEMAS RESPIRATORIOS Y ARTICULARES.

Rojas T V*, Trigo TJF, Trujillo O M E, Beltrán F R, Maya R M, Miranda-Morales RE ^a.

^a *Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia UNAM. Ciudad Universitaria, México. D.F.*

trejov2000@gmail.com

Introducción

La micoplasmosis en cerdos se asociado a diferentes procesos patológicos como neumonía, poliartritis, sinovitis. Principalmente causada por *Mycoplasma hyopneumoniae* microorganismo considerado en la actualidad como uno de los principales problemas de salud que afectan a las explotaciones porcinas en todo el mundo. Sin embargo otros micoplasmas que pueden afectar a los cerdos son *Mycoplasma hyorhinis* responsable de cuadros de poliserositis, neumonía y artritis en los lechones y *Mycoplasma hyosinoviae* asociado a procesos de artritis. El impacto económico es muy alto, lo cual compromete la rentabilidad de la industria productora de carne de cerdo, ya que conllevan a una reducción en el rendimiento productivo, gastos por tratamientos, la tasa de crecimiento se ve reducida hasta en un 15.9% y la conversión alimenticia a 13.8% (Ross *et al.*, 1999). Pijoan 1999, determinó que por cada 10% de lesión pulmonar existe una disminución del 5% en la ganancia diaria de peso lo que ha reportado una pérdida de peso/día en 37.3 gramos. Asimismo Hill *et al.*, . 1994, notifican que cerdos afectados con problemas respiratorios presentan una disminución en la ganancia de peso de 41.1 g diarios y tardan 16.7 días más en salir al mercado, aumentando esto último el costo por alimento en 79.8 pesos por cerdo. Esta situación que contribuye a considerables pérdidas económicas en la producción porcina. La gravedad de la enfermedad viene determinada por otros factores, como los sistemas de manejo, las condiciones ambientales, el estado inmunológico de los animales y la interacción con otros patógenos virales y bacterianos como el virus del síndrome respiratorio y reproductivo porcino (PRRSV),

el virus de influenza, circovirus porcino tipo 2 (PCV2), bacterias como *Pasteurella multocida*, *Actinobacillus pleuropneumoniae*, *Haemophilus parasuis*, *Streptococcus suis*, etc., estas coinfecciones llevan al denominado Complejo Respiratorio Porcino (CRP). *Mycoplasma spp.*, al presentarse en las explotaciones se caracteriza por su elevada morbilidad, baja mortalidad, disnea, (provocada por neumonía), tos, anorexia y artritis. (Armstrong, 1994; Bai *et al.*, 2015). Es importante mencionar que los animales que se han infectado de micoplasmas y logran recuperarse quedan como portadores, siendo los diseminadores del problema cuando son introducidos en hatos libres de la enfermedad.

En México son pocos los trabajos realizados sobre las diferentes especies de micoplasmas involucrados en problemas respiratorios y articulares, lo cual es un área de oportunidad al establecer las especies involucradas en estos procesos, y así posteriormente realizar la genotipificación de las cepas identificadas, para poder llevar a cabo un manejo adecuado un mejor control, un diagnóstico eficaz y buscar un tratamiento adecuado.

El objetivo de este estudio, fue aislar e identificar bioquímicamente micoplasmas de cerdos con signología respiratoria y articular, para estimar la frecuencia de las especies involucradas en la población porcina.

Material y Métodos

Se colectaron 34 muestras de cerdos, de diferentes edades, con problemas articulares y respiratorios. De las cuales 26 fueron pulmones y 8 muestras de líquido sinovial articular.

Para el aislamiento de las muestras se utilizó el medio de cultivo Friss (Howrad 1997), enriquecido con suero de equino, suero de cerdo y levadura fresca e inhibidores como β -lactámicos. Las muestras fueron procesadas como lo indica Tully 1986 y Howard 1997.

Los pulmones fueron macerados, con el medio de cultivo Friss y filtrados por membrana de 0.45 μm , el filtrado fue inoculado en medio líquido y sólido. Del medio líquido se realizaron diluciones decimales hasta 10^6 , fueron incubadas en aerobiosis y las placas de agar en microaerobiosis 5-10% CO_2 . Las diluciones fueron revisadas diariamente para apreciar cambios de pH, ácido o alcalino, se realizaron pases semanales al medio sólido para permitir el desarrollo de colonias, una vez que se observaba la morfología típica de micoplasma "huevo frito" las colonias fueron purificadas por clonación triple. A las cepas purificadas, se les realizó la prueba de sensibilidad a la digitonina y filtrabilidad para identificación de género. A las cepas que durante su crecimiento presentaron cambio de pH ácido se les realizaron las pruebas bioquímicas para determinar especie, se utilizaron las pruebas de fermentación de carbohidratos, Glucosa y Manosa, hidrólisis de la Arginina, reducción del tetrazolio en líquido y sólido en placa, y Películas y manchas.

Resultados y discusión

A partir de las 34 muestras analizadas se obtuvo 29.4 % (10) aislamientos de *Mycoplasma* spp., De los 10 aislados, sólo 7 se identificaron bioquímicamente como *Mycoplasma hyorhinis* que resultaron positivas a la fermentación de glucosa, reducción de tetrazolio líquido y sólido en placa, negativas a la fermentación de la manosa, hidrólisis de la arginina y producción de películas y manchas. Los tres aislados restantes no se les logró la identificación de especie, las reacciones de las pruebas bioquímicas no permitió diferenciar entre las especies que afectan a los cerdos en el tracto respiratorio y articular, *M. hyopneumoniae*, *M. hyorhinis*, *M. flocculare* y *M. hyosynoviae*.

Los aislados de *M. hyorhinis* provienen de las muestras de pulmón de animales de sitios II (específicos de lechones), post-destete estos animales presentaron problemas respiratorios lo que coincide con diferentes estudios donde mencionan a esta especie de Micoplasma como un microorganismo involucrado en el CRP. Neto *et al.*, 2015, mencionan la importancia de la etapa de destete en los lechones que presentan a *M. hyorhinis* principalmente en los problemas respiratorios aunque

ellos utilizaron para su estudio la técnica de PCR en tiempo real, y Torremorell *et al.*, 2005 en un estudio experimental demuestra la importancia de la transmisión por contacto directo durante el destete detectando por PCR a *M. hyopneumoniae* en todos los cerdos estudiados. Al igual, Rodríguez *et al.*, 2010 en un estudio en el estado de Yucatán México, mostró serológicamente con la prueba de ELISA, que los lechones recién destetados en la tercera semana el 98 % presentaron anticuerpos contra *M. hyopneumoniae*, posiblemente maternos y en la semana 15 detectaron anticuerpos en el 7.5 % de los animales, esto refiere que todos los animales que mantuvieron contacto con las madres podían infectarse y mostrar la enfermedad hasta el destete, ya que mientras lactaron tenía anticuerpos maternos. *M. hyorhinis*, generalmente se trasmite de las cerdas a los lechones a través de la secreción nasal, existe en alto porcentaje en el tracto respiratorio de cerdos sanos. Algunas cepas tienen la capacidad de inducir poliserositis serofibrinosa a fibrinopurulenta y artritis. *M. hyorhinis* es aislada de lesiones en fase aguda y subaguda y se ha aislado junto con *M. hyopneumoniae* en problemas respiratorios crónicos. Esta situación se observa por la alta diversidad de antígenos de superficie que presenta *M. hyorhinis* debido por la múltiple frecuencia de la variación de fase que hace que el microorganismo exprese estos antígenos y condicionar una mayor virulencia.

Los tres aislados identificados como *Mycoplasma* spp. provenían de las muestras de líquido sinovial de sementales, que presentaron artritis. Es necesario realizar pruebas moleculares para establecer si este microorganismo es *M. hyosynoviae* o *M. hyorhinis*.

Existen pocos estudios en México, Miranda-Morales en 1986, aisló a *M. hyorhinis* de pulmones de cerdos de rastro e identifico con la prueba de inhibición de crecimiento con el antisero específico de *M. hyorhinis*.

Otros estudios serológicos son realizados con Kits comerciales, donde principalmente se buscaron anticuerpos contra *M. hyopneumoniae*.

Sin embargo el método de aislamiento de estos microorganismos considerados como fastidiosos, es de difícil desarrollo por lo que se recomienda utilizar como alternativa las metodologías moleculares para detección de el material genético de micoplasmas por medio de la PCR, lo que se puede lograr a través de estudios

comparativos de las técnicas moleculares y de tipificación bioquímica, aunado a el establecimiento de todas las especies de micoplasmas implicadas en el CRP en nuestro país.

Conclusiones

Mycoplasma hyorhinis es un microorganismo aislado de pulmón e identificado bioquímicamente, considerado un agente asociado procesos respiratorios en porcinos. Este trabajo es el inicio de un proyecto para conocer las especies de micoplasmas asociadas al CRP y de los aislados realizar los análisis moleculares para la tipificación de *Mycoplasma hyopneumoniae*, *M. hyorhinis* y *M. hyosynoviae*.

Agradecimiento a Proyecto DGAPA-PAPIIT 222515

Referencias bibliográficas

Ross R, Straw B, D'Allaire S, Mengeling W, Taylor D, (1999) *Diseases of Swine*. 8th ed. Ames, Iowa Iowa State University Press; 495-510.

Pijoan C (1999). Departamento de Bacteriología Instituto Nacional de Investigaciones Pecuarias SAG. México D.F.

Armstrong, C. H. (1994). Iowa State University Press: 68-83.

Hill, A, Scheidt, C. (1994). Res Vet Sci, v.64, p.240-244,.

Bai, F. Ni, B. Liu, M. Feng, Z. Xiong, Q. Shao, G. (2015). Veterinary Microbiology. 175(1):58-67.

Tully J. G. Clyde W. A. Senterfit L. B. (1983). Preparation of Micoplasmal Antisera. Mycoplasmal Techniques course. Bordeaux International Organization for Mycoplasmology. 149-153.

Whitford, H. W, Rosenbush R. F. and Lauerman L. H. (1994). Mycoplasmosis in Animals: Laboratory DiagnosiUSA, 1st. ed. Iowa State University Press/ Ames, Iowa. 68-83.

Neto JC, Bower L, Erickson BZ, Wang C, Raymond M, Strait EL 2015 J Vet Sci. Jan 30.

Torremorell M, Pijoan C, Ruiz A, Mendoza S. (2006) Rev Vet Mex. 37 (2): 181-190.

Rodríguez Buenfil , MJ Álvarez Fleites, JC Segura

Correa (2010). *Universidad y ciencia* [online]. 26(2):211-214.

Miranda MRE (1986) Tesis Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. UNAM