

PAPEL DEL *Mycoplasma hyorhinis* EN LAS NEUMONIAS DEL CERDO

M. Sibila¹, A. Ciprián², V. Aragón^{1,3}, A. Dereu⁴ y J. Segalés^{1,5}.

¹Centre de Reserca en Sanitat Anima (CReSA), Universitat Autònoma de Barcelona (UAB)- Institut de Reserca i Tecnologia Agroalimentaries (IRTA), España. ²Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, UNAM. ³Institut de Reserca i Tecnologia Agroalimentaries. ⁴Zoetis International Services, Francia. ⁵Departament de Sanitat i Anatomia Animals, UAB, España

Introducción

Mycoplasma hyorhinis es un microorganismo patógeno que afecta principalmente a los lechones y es común aislarlo del tracto respiratorio superior y de las tonsilas de cerdos con pleuritis, peritonitis, pericarditis o artritis (Friis y Feenstra, 1994), y además esta implicado como causa primaria en otitis media (Yagihashi, 1995). *Mycoplasma hyorhinis* se adhiere al epitelio ciliar del tracto respiratorio superior y frecuentemente se recupera de lesiones pleurales, pericárdicas y sinoviales (Gois *et al.*, 1968; Gois *et al.*, 1971), también se aísla del trato respiratorio superior y de las tonsilas del cerdo, es un microorganismo que frecuentemente actúa como patógeno y que puede causar poliserositis y retardo en el crecimiento y reduce la eficiencia alimenticia (Friis y Feenstra, 1994).

Gois y cols. (1968) realizaron un estudio de *Mycoplasma hyorhinis* como agente etiológico de la neumonía porcina, para ello se infectaron lechones de 4 a 10 semanas de edad con *Mycoplasma hyorhinis* por vía intranasal o bien mediante contacto natural. Bajo anestesia clorofórmica y etérea. La mayoría de los animales se enfermaron con síntomas de rinitis (2 días post infección) y tos (4–8 días p.i.). La necropsia de los animales sacrificados 4–12 días p.i. tuvo por resultado una neumonía muy manifiesta. Microscópicamente predominan las alteraciones desde la neumonía catarral hasta la bronconeumonía purulenta. En los animales sacrificados entre los 20 y 48 días p.i., la neumonía, estaba presente. En el examen histológico, estos animales presentaban una neumonía con alteraciones, que se asemejaban a las de la neumonía enzoótica. En algunos animales también se observó una pericarditis fibrosa.

Estudios de prevalencia en varias granjas encontraron que las cerdas de 1º y 2º parto tienen mayor incidencia que las cerdas de 3º en adelante. La detección por medio de la PCR en cavidad nasal y fluidos orales mostraron que se infectan al entrar a las lechoneras y engordes (poliserositis, artritis a 3 a 10 semanas de vida. La prevalencia encontrada fue baja en cerdas (7%), lechones lactantes (8%) y elevado en lechones después del destete (98%) (Kobayashi *et al.*, 1996; Kobisch y Friis, 1996). En el laboratorio de diagnóstico de la Universidad de Minnesota (USA) se ha encontrado que el 50% de los casos de poliserositis que se recibieron en el laboratorio fueron positivos a *Mycoplasma hyorhinis* por medio de la PCR (Clavijo *et al.*, 2012a y b).

Recientemente *Mycoplasma hyorhinis* se ha considerado como un patógeno importante en cerdos recién destetados en las granjas de Estado Unidos (Clavijo *et al.*, 2012a y b), sin embargo el papel de *Mycoplasma hyorhinis* no se ha establecido a pesar que se han encontrado cepas con diferentes grados de patogenicidad causando artritis, poliserositis y neumonías (Ross y Whittlestone, 1983).

En el presente trabajo Sibila y cols. (2014), realizaron un estudio cuyo objetivo fue evaluar la prevalencia de *Mycoplasma hyopneumoniae* y *Mycoplasma hyorhinis* en lavados broncoalveolares (BALF) de muestras procedentes de animales vivos, con y sin problemas respiratorios procedentes de diferentes explotaciones europeas.

Para ello se tomaron de varias granjas, muestras de BALF de 5 animales de 10 semanas de edad que presentaran problemas respiratorios (animales enfermos) y de 10 cerdos sanos de la misma edad. Esos animales sanos se muestrearon de nuevo a las 20 semanas de edad. Este procedimiento se llevó en 7 granjas europeas diferentes. BALF muestras se procesaron por medio de un método de *M. hyorhinis* PCR cuantitativa en tiempo real (QPCR) y una prueba de *Mycoplasma hyopneumoniae* PCR-nested. Cuando esta última técnica ofreció resultados positivos, se aplicó una prueba de *Mycoplasma hyopneumoniae* QPCR. Los resultados de QPCR se expresaron como log10 medias (min-max) copias / ml de BALF.

Los resultados (ver Cuadro 1) mostraron en términos generales que la detección de *M. hyopneumoniae* fue menor a las 10 semanas de edad (27/105, 26%) que a las 20 semanas de edad (30/58, 52%). Sólo 8 de cada 58 (14%) los animales que fueron positivos a *Mycoplasma hyopneumoniae* nPCR en ambos puntos de muestreo fueron. La detección de *Mycoplasma hyopneumoniae* fue mayor en aquellos animales que presenten problemas respiratorios (11/35, 31,4%) que en animales sanos (16/70, 22,8%) ($p > 0,05$). Carga bacteriana de los animales positivos QPCR que muestran problemas respiratorios media (5,93 [8,60-max = min = 3,89]) no fue significativamente diferente de la de los sanos (6,09 [7,98-max = min = 4,24]).

Cuadro 1. Número (porcentaje) de *M. hyopneumoniae* (nPCR) y *M. hyorhinis* (QPCR) positivas en muestras tomadas de BALF tomadas de cerdos vivos a las 10 y 20 semanas de edad.

Farm	<i>M. hyopneumoniae</i>		<i>M. hyorhinis</i>	
	10 weeks (n=15)	20 weeks (n=10)	10 weeks (n=15)	20 weeks (n=10)
1	4 (27)	3 (33)	3 (20)	3 (33)
2	0 (0)	2 (20)	13 (87)	9 (90)
3	0 (0)	0 (0)	11 (73)	2 (25)
4	4 (27)	6 (67)	13 (87)	6 (67)
5	6 (40)	3 (50)	10 (67)	1 (17)
6	11 (73)	7 (78)	1 (7)	3 (37)
7	2 (13)	3 (37)	14 (87)	6 (75)

Por el contrario, la detección de *Mycoplasma hyorhinis* fue ligeramente superior a las 10 semanas de edad (65/105, 62%) que a las 20 semanas de edad (30/58, 52%). Había 23 de 58 (40%) de animales que fueron positivos a *Mycoplasma hyorhinis* QPCR en ambos puntos de muestreo. La detección de *Mycoplasma hyorhinis* fue mayor en los animales sanos (46/70, 65%) que aquellos animales que presenten problemas respiratorios (19/35, 54%) ($p > 0,05$). La carga bacteriana de QPCR animales sanos positivos media (5,91 [max=8,53 min=4,37]) no fue significativamente diferente de los animales que presenten problemas respiratorios (6,19 [max=8,37 min=4,41]). Diez (9%) y ocho (14%) los cerdos fueron positivos para ambos patógenos a los 10 y 20 semanas

de edad, respectivamente. Sólo dos animales fueron positivos en ambos puntos de muestreo a ambos patógenos.

Con estos resultados concluimos que la detección de *Mycoplasma hyopneumoniae* en muestras de BALF fue mayor en la mayoría de los cerdos más jóvenes, mientras que la detección de *Mycoplasma hyorhinis* fue similar en ambos grupos de edad. Por otro lado, mientras que la detección de *Mycoplasma hyopneumoniae* fue numéricamente mayor en los animales que muestran problemas respiratorios que en los sanos, la detección de *Mycoplasma hyorhinis* fue aparentemente (en este estudio) no estar ligado a la presencia de problemas respiratorios.

MODELOS DE INFECCION ENTRE *Mycoplasma hyorhinis* Y OTROS AGENTES.

1. *Mycoplasma hyorhinis* y *Haemophilus parasuis*.

En la actualidad en México se han presentado una serie de casos neumónicos de presentación sobrealaguda en los que los agentes etiológicos diversos y no han sido determinados, algunos investigadores sugieren la asociación entre *Mycoplasmas* y *Haemophilus parasuis* (identificado por Iglesias y Trujano en 1994). Por este motivo desarrollamos un modelo experimental para demostrar la interacción entre *Mycoplasma hyopneumoniae* y *Haemophilus parasuis* (Lara et al., 1996b).

Para ello se realizó el siguiente diseño experimental en donde se utilizaron 16 lechones de 21 días de edad, procedentes de una granja libre de enfermedades respiratorias y que resultaron negativas a las pruebas serológicas contra *Mycoplasma hyopneumoniae*; *Mycoplasma hyorhinis*; *Haemophilus parasuis*; *Actinobacillus pleuropneumoniae*; PRRS; Virus de Aujeszky y Rubulavirus. Se formaron cuatro Grupos; Grupo 1, Control sin inocular; Grupo 2, fue inoculado el día 1 por vía intratraqueal con 10 ml de medio de cultivo de Friis con *Mycoplasma hyorhinis* cepa ATCC 17981 a un título de 1×10^4 Unidades Cambiantes de Color (UCC); Grupo 3, fue nebulizado el día 6 (empleando una cámara de aerosoles construida especialmente para cerdos) con 1.5×10^8 UFC/ml de la cepa de referencia ATCC 19417 de *Haemophilus parasuis* con un total de 27 ml y Grupo 4, fue inoculado el día 1 por vía intratraqueal con 10 ml de medio de cultivo de Friis con *Mycoplasma hyorhinis* cepa ATCC 17981 a un título de 1×10^4 Unidades Cambiantes de Color (UCC); y después el día 6 fue nebulizado con 1.5×10^8 UFC/ml de la cepa de referencia ATCC 19417 de *Haemophilus parasuis* con un total de 27 ml.

Los resultados obtenidos en los cuatro Grupos mostraron que los signos clínicos fueron variables en donde el Grupo 1, no presentó ningún signo clínico. En el Grupo 2, el día 2 manifestó ligera disnea estertores, y tos seca, los cuales evolucionaron hasta presentar desacarga nasal, respiración abdominal y postración. El Grupo 3 presentó el día 7 disnea estertores, y tos los cuales fueron evolucionando hasta el final del experimento. Por otro lado el Grupo 4, en el día 2 presentó signos similares al Grupo 2 y en el día 7 se observó disnea, estertores, los cuales evolucionaron hasta manifestar descarga nasal, respiración abdominal, boqueo, disnea en reposo y postración. A la necropsia se encontró que el Grupo 1, no presentó lesiones neumónicas. El Grupo 2 presentó como promedio el 3% de lesión neumónica. En el Grupo 3 se encontró un

promedio del 10% de lesiones con adherencias moderadas. En el Grupo 4 se encontró un promedio del 25% de lesiones neumónicas severas, con adherencia graves en los lóbulos apicales, cardiacos y diafragmáticos, además de presentarse hidrotórax y líquido articular. Las pruebas de aglutinación para *Haemophilus parasuis* fueron negativas para los Grupos 1 y 2, mientras que los Grupos 3 y 4 fueron positivos. Se recuperaron de los pulmones los agentes inoculados: en los Grupos 2 y 4 se aisló e identificó *Mycoplasma hyorhinis*, mientras que en los Grupos 3 y 4 se aisló e identificó *Haemophilus parasuis*.

En base a los resultados obtenidos en lo que respecta a la signología; lesiones macroscópicas; serologías y recuperación de los agentes inoculados mostraron resultados muy similares y estadísticamente significativos entre los Grupos 2 y 3, que concuerdan con lo referido por otros autores. En lo que respecta al grupo 4, los resultados encontrados en las lesiones neumónicas fueron estadísticamente significativas. Encontrando en este experimento que hay una sinergia entre *Mycoplasma hyorhinis* y *Haemophilus parasuis*.

REFERENCIAS.

Clavijo, M.J., Oliveira, S. and Rovira, A. (2012). Development of a quantitative PCR assay for the detection of *Mycoplasma hyorhinis*. Proceedings 22nd International Pig Veterinary Society Congress. Korea 2012 Jeju. Pp. 717.

Clavijo, M.J., Oliveira, S., Murray, D., Bruner, L., Olson, S., Rosey, E., Pearce, D., A Rovira, A., (2012). *Mycoplasma hyorhinis*: que provoca y como buscarlo?. Decimo quinto Foro Porcino Pfizer, 1-2 de Octubre 2012, Barcelona, España.

Friis, N.F., Feenstra, A.A. (1994). *Mycoplasma hyorhinis* in the etiology of serositis among piglets. Acta Vet. Scand. 35, 93–98.

Gois, M., Valicek, L. And Sovadina, M. (1968). *Mycoplasma hyorhinis*, a causative agent pig pneumonia, Communication I. Zentralblatt für Veterinärmedizin Rehe B 15:230-240.

Gois, M., Pospisil, M., Cerny, M., Mrva, V., 1971. Production of pneumonia after intranasal inoculation of gnotobiotic piglets with three strains of *Mycoplasma hyorhinis*. J. Comp. Pathol. 81,401–411.

Kobayashi, H., Morozumi, T., Miyamoto, C., Shimizu, M., Yamada, S., Ohashi, S., Kubo, M., Kimura, K., Mitani, K., Ito, N., Yamamoto, K. (1996). *Mycoplasma hyorhinis* infection levels in lungs of piglets with porcine reproductive and respiratory syndrome. J. Vet. Med. Sci. 58, 109–113.

Kobisch, M. and Friis, N.F. (1996). Swine mycoplasmoses. Rev. Sci. Tech. Off. Int. Epiz. Pp.1569-1605

Lara, H.J., Torres, M.E., Sánchez, A., Tortora, J., Cruz, T., Hernández, E., Mendoza, S y Ciprián, A. (1996a). Desarrollo de un modelo experimental para demostrar la interacción entre *Mycoplasma hyopneumoniae* y *Haemophilus parasuis*. Memorias del XXXI Congreso Nacional de la Asociación Mexicana de Veterinarios Especialistas en Cerdos, A.C. Veracruz, Ver. Agosto 1996. P. 78.

Lara, H.J., Torres, M.E., Sánchez, A., Tortora, J., Cruz, T., Hernández, E., Mendoza, S y Ciprián, A. (1996b). Estudio de la Interacción entre *Mycoplasma hyorhinis* y *Haemophilus parasuis*. Memorias del XXXI Congreso Nacional de la Asociación Mexicana de Veterinarios Especialistas en Cerdos, A.C. Veracruz, Ver. Agosto 1996. P. 79.

Sibila, M., Ciprián, A., Aragón, V., Dereu, A., and Segalés J. (2014). Prevalence of *Mycoplasma hyopneumoniae* and *Mycoplasma hyorhinis* in broncho-alveolar lavage fluid (BALF) samples in live animals with and without respiratory problems. Proceedings 23th International Pig Veterinary Society en Cancun, en México del 8 al 11 de Junio del 2014. P. 98.

Ross, R.F., and Wittlestone, P. (1983). Recovery of identification of, and serological response to porcine *mycoplasmas*. Methods in Mycoplasmaology 2:115-127.

Yagihashi, T., (1995). Demonstration of *Mycoplasma hyorhinis* as a posible primary pathogen for porcine otitis media. Vet.Pathol. 32, 107±111.