

Una nueva generación de vacuna
con resultados superiores*.

LA MEJOR DEL FUTURO, REVOLUCIONANDO EL AHORA.

Conveniencia, eficacia superior
y protección de larga duración
contra Neumonía Enzoótica.



Protocolo de dosis única



Antígeno con alta expresión
de proteínas externas y alta
inmunogenicidad



Adyuvante que induce inmunidad
celular y de mucosa



Duración de inmunidad de
por lo menos 25 semanas





Actualizaciones sobre el *Mycoplasma* *hyopneumoniae*

ÍNDICE

Capítulo 1..... 06

Profesor de Clínica Médica de Porcinos – Universidad Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” – Unesp – DCCV / FCAV – Jaboticabal – SP/Brasil.

Luís Guilherme de Oliveira, DVM, MSc, PhD.

Capítulo 2..... 10

Profesor de Clínica Médica de Porcinos – Universidad Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” – Unesp – DCCV / FCAV – Jaboticabal – SP/Brasil.

Luís Guilherme de Oliveira, DVM, MSc, PhD.

Capítulo 3..... 14

SuineVET. Consultor Independiente Especializado como Veterinario y Nutricionista en Cerdos.

Dr. Jaime Iván Velásquez A. DVM, MSc.

Capítulo 4..... 21

Investigadora de Post-Doctorado en el Sector de Cerdos de la Facultad de Veterinaria de la Universidad Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS) – Brasil

Karine Ludwig Takeuti, DVM, MSc, PhD.

Capítulo 5..... 25

Profesor de Microbiología e Inmunología Veterinaria. Laboratório de Microbiología e Inmunología Avanzada, Universidad de Passo Fundo, RS – Brasil

Rafael Frandoso, DVM., Ph.D.

Capítulo 6..... 32

EBVS® Especialista Veterinario Europeo en Gestión de Sanidad Porcina Facultad de Medicina Veterinaria, Universidad de Ghent, Bélgica

Dominiek Maes, DVM, PhD, MS, MSc, Dipl. ECVPH.

Capítulo 7..... 37

Profesor Asociado. Laboratório de Diagnósticos Veterinarios, Universidad de Minnesota/E.E.U.U.

Fabio Vannucci, DVM, MSc, PhD.

Departamento de Medicina Veterinaria de Población & Laboratorio de Medicina Veterinaria Diagnóstica, Universidad de Minnesota/E.E.U.U.

Maria Pieters, DVM, PhD.

Capítulo 8..... 41

Investigadora de Post-Doctorado en el Sector de Cerdos de la Facultad de Veterinaria de la Universidad Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS) – Brasil.

Karine Ludwig Takeuti, DVM, MSc, PhD.

Capítulo 9..... 47

Profesor Asociado. Laboratório de Diagnósticos Veterinarios, Universidad de Minnesota/E.E.U.U.

Fabio Vannucci, DVM, MSc, PhD.

Departamento de Medicina Veterinaria de Población & Laboratorio de Medicina Veterinaria Diagnóstica, Universidad de Minnesota/E.E.U.U.

Maria Pieters, DVM, PhD.



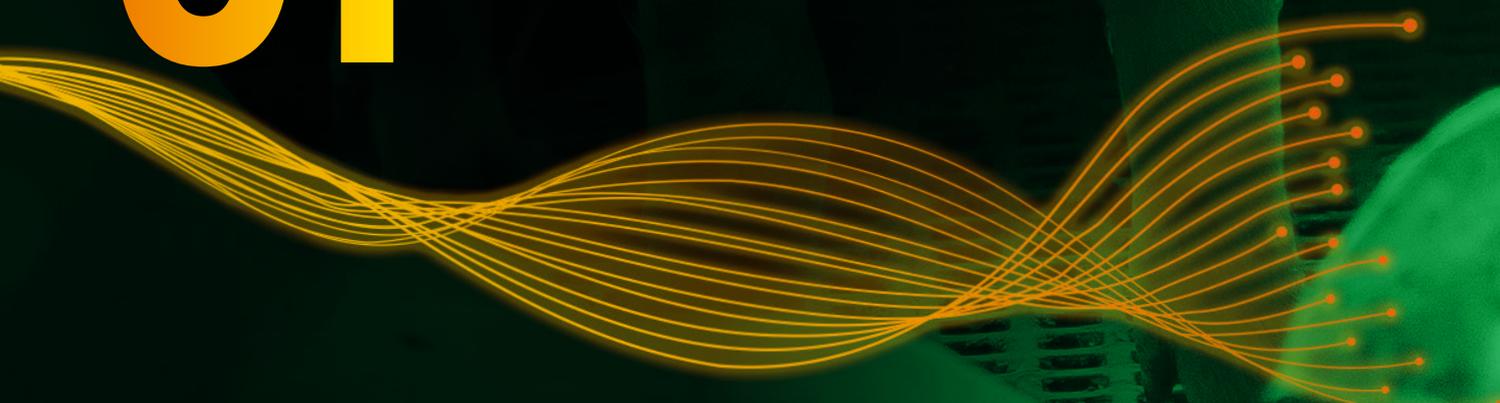
Revolución.

Profundos cambios, disrupción.
Un completo **m o v i m i e n t o**,
búsqueda constante por innovación,
mas allá del mejor.
Fuerza, **poder**, **intensidad**.
Transformación.
Lo improbable se convierte en realidad,
ahora.

BIENVENIDO AL FUTURO.



CAPITULO 01



Epidemiología y dinámica de infección por *Mycoplasma hyopneumoniae* en los principales países productores de porcinos

Luís Guilherme de Oliveira, DVM, MSc, PhD.

Profesor de Clínica Médica de Porcinos - Universidad Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" - Unesp - DCCV / FCAV - Jaboticabal - SP/Brasil.

El *Mycoplasma hyopneumoniae* (*M. hyopneumoniae*) está mundialmente generalizado y recurrente en las explotaciones porcinas de los principales países productores. Las lesiones por neumonía asociadas a la infección por el agente *M. hyopneumoniae* son las más comúnmente detectadas en plantas de sacrificio de cerdos, estimándose una prevalencia mundial entre 19% y 79% (Fablet et al., 2012). Las lesiones pulmonares son responsables por disminución en el crecimiento de los animales con consecuente caída en la productividad. Por ello, se consideran uno de los problemas sanitarios y de bienestar más importantes en las explotaciones porcinas intensivas de todo el mundo (Cobanovic et al., 2016).

Por tratarse de una infección endémica en la producción porcina industrial, no existen datos oficiales de prevalencia en los países, sólo información proveniente de encuestas que consideran lesiones en plantas de sacrificio, serología, detección de excretas y/o estudios moleculares, entre otros. En general, se cree que más del 70% de los porcinos en todo el mundo está infectado con *M. hyopneumoniae* (Pieters y Maes, 2019). Hay una estimación que, aproximadamente, 70% de la población de porcinos en todo el mundo son vacunados contra *M. hyopneumoniae* y que el índice de vacunación está aumentando en los países en los que la producción de

porcinos cambia rápidamente para sistema comerciales intensivos (Martelli et al., 2014). A esto se suman los datos sobre el amplio uso de antimicrobianos para controlar las enfermedades respiratorias en las fases de cría y terminación, lo que refuerza la hipótesis de que se trata de la infección pulmonar bacteriana más prevalente en los cerdos a nivel mundial.

Estudios revelan que la situación de la infección por *M. hyopneumoniae* en los porcinos de varios países es preocupante. En lechones recién destetados en Bélgica y en los Países Bajos, mediante la recolección de moco de la región de la fosa nasal, se obtuvo un 27% de positividad para *M. hyopneumoniae* en lechones de 3 a 5 semanas y un 29% en lechones de 6 a 11 semanas, lo que comprende prevalencias del 7,1% y el 10,9% en estos grupos de edad, respectivamente (Vangroenweghe et al., 2015). En Italia, Meriardi y colaboradores (2012), registraron 94,7% de porcinos seropositivos para *M. hyopneumoniae* al sacrificio (160 kg). En Francia se realizó una investigación de seroprevalencia en cerdos de 120 días de edad de 125 pjaras, revelando que más del 40% de los animales eran positivos por análisis molecular (Fablet et al., 2012). En España y Portugal, 199.678 cerdos de 221 pjaras con diferentes sistemas de producción fueron examinados en plantas de

sacrificio entre 2013 y 2017. El estudio mostró una prevalencia de lesiones sugestivas de *M. hyopneumoniae* en el momento del sacrificio del 30,97% y, mediante exámenes microscópicos, se encontraron combinaciones de lesiones en el 66,13% de los pulmones examinados y en todos había características de infección por *M. hyopneumoniae* (Pallarés et al., 2021). Los hallazgos mencionados apoyan la importancia de este patógeno como agente primario en el complejo de enfermedades respiratorias porcinas, potenciando así los retos de las piaras infectadas por PRRS, virus de la gripe, circovirus, entre otros.

En Canada, un estudio evaluó 160 pulmones de porcinos de 48 diferentes granjas, con lesiones sugestivas de neumonía enzoótica y los scores de las lesiones neumónicas oscilaron entre el 2% y el 84%. En este estudio, los aislamientos difieren entre explotaciones y, en algunos casos, incluso dentro de la misma explotación. Además, casi la mitad de los aislamientos de campo mostraron menos del 55% de homología con la vacuna seleccionada y las cepas de referencia (Charlebois et al., 2014). La diversidad genética fue investigada en 27 muestras de lavado broncoalveolar de cinco piaras de cerdos ubicadas en diferentes distritos de la provincia de Mendoza – Argentina, identificando ocho diferentes tipos de *M. hyopneumoniae* a partir del análisis de MLVA (Sosa et al., 2019).

En los Estados Unidos de América se está generando diversa información sobre la epidemiología de *M. hyopneumoniae*, con estudios sobre la dinámica de la infección (Betlach et al., 2020), la aclimatación (Silva et al., 2021), las técnicas de diagnóstico (Moiso et al., 2020; Clavijo et al., 2021) y los programas de erradicación (Yeske et al., 2020), entre otros. El hecho es que la enfermedad causada por *M. hyopneumoniae* tiene un gran impacto en la producción porcina norteamericana. Como resultado, los programas de diagnóstico/mo-

nitoreo, estrategias de vacunación, medicamentos y aclimatación han sido fuertemente valorados. Además, la erradicación se convirtió en una tendencia creciente en los últimos años, porque trae beneficios a la producción a gran escala, como la mejora en el aumento de peso diario, en el índice de conversión alimentaria y en el costo de producción (Yeske et al., 2020).

Aunque la prevalencia de la infección por *M. hyopneumoniae* sea alta en los principales países productores de porcinos, hay países libres de la infección por *M. hyopneumoniae* en su población, como es el caso de Suiza (Stark et al., 2007), Noruega (Gulliksen et al., 2019) y Finlandia (Rautiainen et al., 2001). Estos países presentan pequeñas dimensiones geográficas y una limitada producción de porcino, lo que puede justificar la ausencia de infección por *M. hyopneumoniae* en sus poblaciones. El escenario comúnmente observado en los principales países productores es la adopción de granjas libres de *M. hyopneumoniae*; algo que resulta ventajoso en varios aspectos, especialmente en el financiero (Silva et al., 2020). Por lo tanto, la búsqueda por la erradicación, asociada al aumento en las prácticas de bioseguridad, se muestra como un excelente camino para la calidad sanitaria de las granjas.

Por último, para comprender mejor la epidemiología, hay que tener en cuenta algunas características básicas inherentes a *M. hyopneumoniae*, como: la amplia difusión en las regiones productoras de cerdos; la lenta tasa de transmisión; la persistencia de la infección; la diversidad genética; y el componente crítico de la transmisión de las cerdas a los lechones. Esto, junto con las características de cada país, región, sistema de producción o granja en una evaluación clínico-epidemiológica, puede apoyar el desarrollo de programas de control más asertivos, utilizando estrategias adecuadas a cada realidad.

Referencias

- BETLACH et al. Natural transmission and detection of *Mycoplasma hyopneumoniae* in a naive gilt population. *Veterinary Microbiology*, v. 248, 108819, 2020.
- CHARLEBOIS et al. Genetic diversity of *Mycoplasma hyopneumoniae* isolates of abattoir pigs. *Veterinary Microbiology*, v. 168, p. 348–356, 2014.
- CLAVIJO et al. *Mycoplasma hyopneumoniae* surveillance in pig populations: establishing sampling guidelines for detection in growing pigs. *Journal of Clinical Microbiology* 59:e03051-20, 2021.
- ČOBANOVIĆ et al. Carcass quality and hematological alterations associated with lung lesions in slaughter pigs. *Scientific Papers Animal Science and Biotechnologies*, v. 49(1), p. 236–240, 2016.
- FABLET et al. Bacterial pathogens associated with lung lesions in slaughter pigs from 125 herds. *Research in Veterinary Science*, v. 93, p. 627–630, 2012.
- GULLIKSEN et al. The successful eradication of *Mycoplasma hyopneumoniae* from Norwegian pigs herds – 10 years later. *European Symposium of Porcine Health Management*, Utrecht, The Netherlands, 2019.
- MARTELLI et al. Systemic and local immune response in pigs intradermally and intramuscularly injected with inactivated *Mycoplasma hyopneumoniae* vaccines. *Veterinary Microbiology*, v. 168(2–4), p. 357–364, 2014.
- MERIALDI et al. Survey of pleuritis and pulmonary lesions in pigs at abattoir with a focus on the extent of the condition and herd risk factors. *The Veterinary Journal*, v.193, p. 234–239, 2012.
- PALLARÉS et al. Prevalence of mycoplasma-like lung lesions in pigs from commercial farms from Spain and Portugal. *Porcine Health Management*, v. 7:26, 2021.
- PIETERS & MAES. Mycoplasmosis. In: ZIMMERMAN, J.J.; KARRIKER, L.; RAMIREZ, A.; SCHWARTZ, K.J.; STEVENSON, G.W; ZHANG, J. *Diseases of swine*. 11th ed. Hoboken, NJ : Wiley–Blackwell, 2019. pp. 863–883, 2019.
- RAUTIAINEN et al. Regional eradication of *Mycoplasma hyopneumoniae* from pigs herds and documentation of freedom of the disease. *Acta Veterinaria Scandinavica*, v.42(3), p. 355–364, 2010.
- STARK et al. A successful national control programme for enzootic respiratory diseases in pigs in Switzerland. *Revue Scientifique et Technique*, v. 26(3), p. 595–606, 2007.
- SILVA et al. Benefit-cost analysis to estimate the payback time and the economic value of two *Mycoplasma hyopneumoniae* elimination methods in breeding herds. *Preventive Veterinary Medicine*, v.168, p. 95–102, 2019.
- SILVA et al. Comparison of *Mycoplasma hyopneumoniae* response to infection by route of exposure. *Veterinary Microbiology*, v. 258, 109118, 2021.
- SOSA et al. Genetic diversity of *Mycoplasma hyopneumoniae* in Mendoza province. *Revista Argentina de Microbiologia*, v.51(3), p. 229–233, 2019
- VANGROENWEGHE et al. *Mycoplasma hyopneumoniae* infections in peri-weaned and post-weaned pigs in Belgium and the Netherlands: Prevalence and associations with climatic conditions. *The Veterinary Journal*, v. 205, p. 93–97, 2015.
- YESKE et al. Survival analysis of two *Mycoplasma hyopneumoniae* eradication methods. *Preventive Veterinary Medicine*, v.174, 104811, 2020.



CAPITULO 02



Epidemiología y dinámica de infección por *Mycoplasma hyopneumoniae* en porcinos en Brasil

Luís Guilherme de Oliveira, DVM, MSc, PhD

Profesor de Clínica Médica de Porcinos - Universidad Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" - Unesp - DCCV / FCAV - Jaboticabal - SP/Brasil.

Independientemente de la ubicación geográfica, tipo de sistema, producción y número de porcinos alojados se puede observar una amplia diseminación de la infección por *Mycoplasma hyopneumoniae* (M. Hyo) en los sistemas brasileños, lo que se traduce en un gran potencial de daños sobre la productividad. Lesiones de consolidación pulmonar sugestivas de Neumonía Enzoótica, aunque no son patognomónicas de infecciones por M. hyo, son positivamente asociadas a poblaciones seropositivas para esta bacteria (Merialdi et al., 2012). La alta incidencia de lesiones de consolidación pulmonar en porcinos sacrificados comercialmente en Brasil ha sido señalado como el principal reto respiratorio observado desde hace varios años (Reis et al., 1992; Kich y Pontes, 2001; Sobestiansky et al., 2001).

A pesar de la evidente mejora en varios segmentos de la producción porcina a lo largo de los años, como la nutrición, la genética, el medio ambiente y el bienestar animal, el problema de la neumonía enzoótica parece haberse intensificado en Brasil. Estudios recientes han demostrado que la prevalencia brasileña de animales con consolidación pulmonar en el sacrificio es alarmante y prevalencias similares han sido encontradas en diferentes regiones del país. Baraldi et al. (2019) evaluaron porcinos al sacrificio de 21 granjas comerciales en el Estado de São Paulo, en los años de 2016 y

2017, y registraron una prevalencia de 79,8%, con área pulmonar consolidada promedio de 12%. Concomitantemente, otro estudio evaluó 30 granjas de cerdos comerciales en el Estado de Goiás y obtuvo una prevalencia de 80,33% y 7,29% de área consolidada promedio (Galdeano et al., 2019). En el Estado de Rio Grande do Sul, se detectó M. hyo en el 83,3% de las muestras analizadas para diferentes agentes causantes de neumonía en cerdos sacrificados de cinco empresas integradoras (De Conti et al., 2021), mientras que en el Estado de Minas Gerais, el 68,5% (333/486) de los pulmones evaluados en un lote de terminación tenían lesiones pulmonares macroscópicas (Ferraz et al., 2020). Las prevalencias mencionadas pueden ser confirmadas por los registros del Sistema de Gestión de Servicio de Inspección Federal (SIGSIF), que destacan que la neumonía, junto con la pleuritis, son unas de las más importantes causas de decomiso registradas en las plantas de sacrificio de Brasil. Sin embargo, la lesión de consolidación pulmonar es un excelente indicador y revela la dimensión epidemiológica del problema de la Neumonía Enzoótica.

De manera similar, datos serológicos confirman la intensa presencia de infección por M. hyo en los porcinos brasileños y, especialmente, la diseminación a lo largo de las fases del sistema de cría. En plantas de sacrificio de la

región central del Estado de São Paulo, se registró un 52% (104/200) de muestras seropositivas para *M. hyo* en 13 de los 14 municipios analizados (Vicente et al., 2013). También, en granjas de São Paulo (21 unidades de ciclo completo), la prevalencia de anticuerpos contra *M. hyo* aumentó a lo largo de las fases del sistema de cría (precebo: 27,7%; reproducción: 43,7%; terminación: 69,8% y sacrificio: 80%), mostrando la mayor prevalencia en la fase de sacrificio (Baraldi et al., 2019). De la misma manera, en sistema integrado de producción en el Estado de Goiás, se evidenció un aumento en el porcentaje de animales que presentaban anticuerpos contra *M. hyo* a lo largo de las fases de precebo (22,42%), reproducción (24,21%), terminación (61,11%) y al sacrificio (88,36%) (Galdeano et al., 2019). Los registros mencionados revelan el potencial de amplificación de la infección por *M. hyo* en las poblaciones y corroboran con Fano et al. (2007) sobre la importancia de la transmisión horizontal y la infección temprana de los lechones. Estos autores señalan que si más del 10% de los lechones están infectados por *M. hyo* al destete, el número de pulmones afectados en el momento del sacrificio será superior al 45%.

En la investigación epidemiológica de la infección por *M. hyo*, además de los estudios de prevalencia, el uso de diversas técnicas moleculares ha permitido generar importante información sobre la enfermedad. El uso de la técnica de PCR en tiempo real en muestras de hisopos de amígdalas puede evidenciar el inicio y la duración de la excreción, y el análisis MLVA (multiple locus variable-number tandem repeats) puede indicar la diversidad genética, las fuentes y las rutas de las diferentes cepas. Mediante estas técnicas, Takeuti et al. (2017) demostraron la importancia epidemiológica de las hembras de reemplazo en la granja y evidenciaron la diversidad genética de *M. hyo* introducida en la población. Del mismo modo, se han detectado múltiples variantes de *M. hyo* circulando en poblaciones de cerdos en Esta-

dos Unidos, Brasil, México y España (Santos et al., 2015). En Brasil, las técnicas moleculares revelaron la diversidad genética de varias cepas de campo de *M. hyo*, basada en 16 genes seleccionados relacionados con la virulencia y/o la respuesta inmunitaria (Assao et al., 2019). Los resultados apoyan la confirmación de que la diferencia entre cepas puede influir en la patogenicidad de *M. hyo*. Así, se puede ver que los avances en los estudios de epidemiología molecular aportan conocimientos sobre las variaciones genéticas, antigénicas, de patogenicidad, proteómicas y transcriptómicas de *M. hyo* y son herramientas que ayudan al desarrollo de técnicas de control, como la selección de candidatos a vacuna.

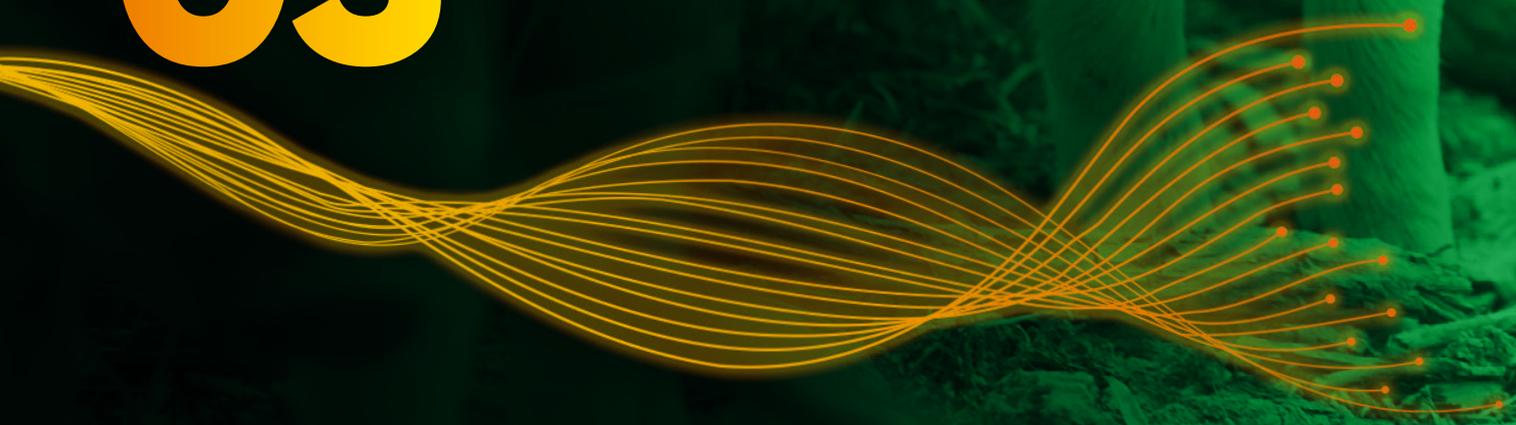
Finalmente, es importante destacar que las coinfecciones son condiciones comunes, forman parte de la patogénesis de la Neumonía Enzootica y juegan un papel clave en la epidemiología de la infección por *M. hyo*, ya que guiarán el desarrollo clínico de la enfermedad. Actualmente, se cree que los patógenos que más interactúan con *M. hyo* en las poblaciones brasileñas son: Influenza, Circovirus, *Pasteurella multocida* y *Actinobacillus pleuropneumoniae*. Cada uno de estos patógenos se beneficia y/o es beneficiado por la presencia de *M. hyo*, potenciando así sus efectos. Hay varios estudios que informan de estas interacciones sinérgicas y de la dinámica de la infección en sistemas de cría de cerdos (Mores et al., 2015; Baraldi et al., 2019; Galdeano et al., 2019; De Conti et al., 2021). Sin embargo, otros microorganismos pueden interactuar con *M. hyo*, como otros micoplasmas (Ferreira et al., 2021), *Streptococcus suis*, *Glaesserella parasuis*, así como la ingestión de micotoxinas. Además, se deben considerar los factores de riesgo asociados a la presencia de enfermedades respiratorias, porque la epidemiología de las enfermedades será determinadamente impactada por estos factores (Barcelos et al., 2008).

Referencias

- ASSAO et al. Genetic variation of *Mycoplasma hyopneumoniae* from Brazilian field samples. *BMC Microbiology*, v. 19:234, 2019.
- BARALDI et al. Antibodies against *Actinobacillus pleuropneumoniae*, *Mycoplasma hyopneumoniae* and influenza virus and their relationships with risk factors, clinical signs and lung lesions in pig farms with one-site production systems in Brazil. *Preventive Veterinary Medicine*, 171,104748, 2019.
- FANO et al. Effect of *Mycoplasma hyopneumoniae* colonization at weaning on disease severity in growing pigs. *The Canadian Journal of Veterinary Research*. v. 71, 195–200, 2007.
- FERRAZ et al. Lung consolidation caused by *Mycoplasma hyopneumoniae* has a negative effect on productive performance and economic revenue in finishing pigs. *Preventive Veterinary Medicine*, 182, 2020.
- FERREIRA et al. Co-infections by *Mycoplasma hyopneumoniae*, *Mycoplasma hyorhinis* and *Mycoplasma flocculare* in macroscopic lesions of lung consolidation of pigs at slaughter. *Veterinary Microbiology*, 258, 2021.
- GALDEANO et al. Cross-sectional study of seropositivity, lung lesions and associated risk factors of the main pathogens of Porcine Respiratory Diseases Complex (PRDC) in Goiás, Brazil. *Porcine Health Management*. v. 5:23, 2019.
- KICH & PONTES. Análise atual das doenças respiratórias no Brasil. In: Congresso Brasileiro De Veterinários Especialistas Em Suínos. Porto Alegre. Resumos. Porto Alegre: Associação Brasileira de Veterinários Especialistas em Suínos, 58–67, 2001.
- MERIALDI et al. Survey of pleuritis and pulmonary lesions in pigs at abattoir with a focus on the extent of condition and herd risk factors. *The Veterinary Journal* v. 193, p. 243–239, 2012.
- MORES et al., Aspectos patológicos e microbiológicos das doenças respiratórias em suínos de terminação no Brasil. *Pesq. Vet. Bras.* 35(8):725–733, 2015.
- REIS et al. Estudo das lesões pulmonares de suínos de abate. *Arquivos Brasileiros de Medicina Veterinária e Zootecnia*. V. 44, n. 5, p. 407–418, 1992.
- SANTOS et al. Genotype distribution of *Mycoplasma hyopneumoniae* in swine herds from different geographical regions. *Veterinary Microbiology*, v. 175, 374–381, 2015.
- SOBESTIANSKY et al. Estudos ecopatológicos das doenças respiratórias dos suínos: prevalência e impacto econômico em sistemas de produção dos estados de Santa Catarina, Rio Grande do Sul e Paraná. *Comunicado Técnico 287*. Embrapa Suínos e Aves, p. 1–6, 2001.
- TAKEUTI et. al. Infection dynamics and genetic variability of *Mycoplasma hyopneumoniae* in self-replacement gilts. *Veterinary Microbiology* v. 208, 18–24, 2017.



CAPITULO 03



Neumonía Enzootica del cerdo por *Mycoplasma hyopneumoniae*: contexto en Colombia

Dr. Jaime Iván Velásquez A. DVM, MSc.

SuineVET. Consultor Independiente Especializado
como subir al renglón anterior

Población susceptible

En Colombia hay un 3% de cerdos criollos (cruces de Zungo) ubicados a la intemperie en la zona caribeña, proceden de cerdos traídos por colonizadores españoles en 1.525. En el 2015 se faenaron 4.6 millones de cerdos de 200.000 predios con menos de 10 cerdas (46.500 tecnificadas), 1.6 millones de Antioquia (Van Handel 2016). En 2019, se faenaron 4.8 millones, Eliminar esta información, NO es coherente el porcentaje de crecimiento con el total de animales. (<https://www.porkcolombia.co/en/about-identity/>).

Diagnóstico

El *Mycoplasma hyopneumoniae* se aisló por primera vez en Colombia por G. Morales (Instituto Colombiano Agropecuario-ICA) y E. Roberts en 1967. Desde entonces Desde entonces, se utilizan pruebas de difícil realización sólo para investigación en el laboratorio de referencia del ICA. Tanto en el laboratorio nacional de referencia, como en una red de laboratorios acreditados, se hacen pruebas por kits de ELISA y PCR (Guzmán y Cols, 2008; Pulido y Cols, 2006).

Los resultados de serología por ELISA fluctúan al destete entre 1.0 a 3.2 de relación SP, según factores de riesgo de cada granja. Los anticuerpos fluctúan bastante durante el periodo de levante y ceba cuando se vacuna según las indicaciones de los fabri-

cantes.. Cuando las cerdas son vacunadas al final de la gestación y los cerdos después del, los anticuerpos pueden ser indetectables después de los días 60 a 80 de vida, excepto cuando se presenta un rebrote.

Epidemiología

Todas las granjas porcinas en Colombia están infectadas con *Mycoplasma hyopneumoniae*. Un estudio demostró lo que comúnmente se observa en campo: más del 60% de los cerdos (55) mostraron alguna lesión de consolidación pulmonar al sacrificio y en estos tejidos (54) se confirmó la presencia por PCR del *Mycoplasma hyopneumoniae* (98%) (Guzmán H, 2008).

Factores de riesgo: (1) Naturaleza del agente: patogenicidad, infecciosidad y la resistencia o susceptibilidad antibiótica.

(2) Factores del ambiente: (a) La altitud es un factor prominente porque define concentración de oxígeno en el aire y humedad relativa, (b) temperatura (ambiente térmico): aislamiento térmico, (c) gases (d) polvo, (e) ventilación, además de velocidad del aire, tiempo entre patógenos (Gebhardt J y Cols, 2020).

(1) Naturaleza del agente: la variabilidad genética del *Mycoplasma hyopneumoniae* no se conoce en Colombia. En el continente sólo se ha estudiado en Brasil, Canadá y Estados Unidos, mediante la metodología de

análisis MLVA (multiple locus variable-number tandem repeats), aplicado a un marco geográfico con localizaciones y sistemas de producción con sus operaciones, flujos de producción y granjas (Assao S y Cols, 2019; Betlach AM y Cols, 2020).

(2) Factores del ambiente: (a) altitud: en Colombia, la mayor parte de la población porcina está ubicada en altitudes entre 900 y 2.900 metros. Las líneas genéticas de cerdos actuales no están diseñadas para tolerar la altitud. En alta altitud ocurre baja saturación de oxígeno, los animales deben incrementar la hemoglobina y se aumenta el trabajo cardíaco.

En necropsias en altitud con frecuencia se observa edema pulmonar fisiopatológico. Bajo estas condiciones ocurre microaerobiosis, factor predisponente de micoplasmosis. Un gen análogo al BMPR2 humano, se activa y cambia la conformación de la proteína HIF2alfa, esta no se degrada en altitud, se produce hipertensión pulmonar y luego edema pulmonar (Newman JH y Cols, 2015), aumentando la albumina, glóbulos rojos y blancos en el lavado bronco-alveolar (Kleinsasser y Cols, 2003).

La presión atmosférica (la humedad relativa): el vapor de agua disuelto en el aire aumenta la supervivencia del *Mycoplasma hyopneumoniae* en el ambiente. El vapor de agua puede aumentar con la altitud o con la precipitación (Vangroenweghe F y col, 2015). Sin embargo, en un ambiente seco, las partículas finas no se precipitan y permanecen en el aire facilitando la transmisión (Stark C y Cols, 1998).

(b) Ambiente térmico-temperatura efectiva: las condiciones intramurales son dependientes del clima y zona geográfica. Es mejor medir la temperatura efectiva que la del aire. Esta comprende la temperatura del piso, paredes, techo, temperatura del aire,

velocidad del aire frío y humedad relativa. La temperatura efectiva afecta la salud y el consumo de alimento (Miller T, 2012). Una baja temperatura y polvo aumentan la supervivencia del *Mycoplasma hyopneumoniae* y su transmisión indirecta porque facilita su supervivencia en el ambiente (Browne C y Cols, 2016).

Colombia tiene definidos sus pisos térmicos como zona Caribe, zona insular, zona Andina, zona Amazónica, zona de la Orinoquia y la zona Pacífica. Hay operaciones porcinas en todos los ambientes térmicos de 0 metros: cálido con >24+ grados; 1000m: Templado > de 18+ grados; 2.000m: con 12+ grados; 3.000m: páramo con 0+ grados (Aguilimpia Y y Cols, 2018).

(c) Gases que se producen de los sitios con purines: paralizan las cilias del epitelio bronquial y favorecen una mayor infección con *Mycoplasmas* y otras bacterias. Se pueden detectar gases como: de carbono-CO, dióxido de carbono-CO₂, ácido sulfhídrico (H₂S₀₄), Amoniaco, Metano (CH₄), críticos en las instalaciones de los precebos. Controlar la ventilación y la temperatura es crucial para reducir contaminantes que afecten la salud animal (Peters T y Cols, 2012). Mientras no se mida no se puede controlar.

Las fosas en Colombia, cuando las hay, son superficiales con no más de 1 metro y fosas profundas de 4 metros no existen. La inhalación de polvo y amoniaco vehiculizado por ser higroscópico, produce tos crónica, enfermedad de las vías respiratorias y bronquitis tanto en los humanos como en los porcinos (Dewey C y Cols, 2.000).

En las cebas donde no se utilizan fosas, se manejan pendientes muchas veces con charcas. Estas charcas pueden incrementar la enfermedad respiratoria por la alta evaporación y humedad de los animales mojados. Esas condiciones son favorables para la

neumonía enzootica y para la sinovitis por las infecciones con *Mycoplasma hyopeumoniae*, *Mycoplasma hyorhinitis* y *M. hyosinoviae*.

(d) Polvo: en las granjas colombianas es acumulativo por carencia de ventilación. El aparato mucociliar no alcanza a limpiar las vías aéreas, ocurre daño de células epiteliales por presión osmótica y oncótica, finalmente ocurre infección epitelial. Además, los antígenos del alimento y heces activan el sistema inmune, se producen proteínas de fase aguda: haptoglobina, ceruloplasmina, albúmina, glicoproteína ácida alfa 1 y se deprime el crecimiento. (Wang Z, and Cols, 1997).

En el polvo hay 3 rangos de tamaños de partículas: <5 micras van a alveolos pulmonares, 6 a 30 micras, a bronquios y bronquiolos, 31 a 70 micras van a vías respiratorias superiores. Los nutrientes totales digeribles presentes en el polvo producen. En Colombia el polvo puede ser el mayor determinante de enfermedad respiratoria en cerdos.

(e) Ventilación: técnicamente no hay ventilación en las granjas porcinas colombianas. Sin equipos no se puede controlar el volumen de aire, su velocidad, dirección y temperatura. Cuando se aplica ventilación controlada, se requiere control de la presión estática, que implica salas totalmente selladas y eso no ocurre en Colombia, mucho menos ventilaciones cruzadas y de túnel. Se usan cortinas con el objeto de impedir la entrada de aire para conservar la temperatura en la noche.

La temperatura ambiental efectiva se mide con varios aparatos: termómetro digital tipo lapicero, lápiz sensor de humedad (alto grado de precisión) 3. Foto-tach o detector térmico fotográfico de superficies, pistola de temperatura digital de rayos infrarrojos, foto hélico de mano para medir presión estática, anemómetro (Dispositivo de medición de velocidad del aire), e higrómetro para medir la

humedad relativa.

Todos estos conceptos técnicos están acompañados con la temperatura mínima crítica que tiene en cuenta tanto el peso, como la edad de los cerdos (Baker JE, 2004).

Tratamiento

El tratamiento curativo con antibióticos es el método de intervención más antiguo contra el *Mycoplasma hyopneumoniae*. A la sensibilidad antibiótica, le sigue la resistencia antibiótica, fácil de observar clínicamente a tilosina respecto a *Mycoplasma hyopneumoniae*. Se usa: Florfenicol, Tilosina, Aivlosin, Tiamulina, Tilmicosina, Tildipirosina, Tulatromicina, Lincomicina-Spectinomina, Tetraciclina, Doxiciclina, Enrofloxacin, Ciprofloxacina, Marbofloxacina, Josamicina* y Valnemulina* (*ya no disponibles en Colombia).

Prevención

Prevenir la infección ante la ausencia del agente infeccioso con bioseguridad. Prevenir la presentación de la enfermedad, con medidas de control. Eliminar la presencia del agente de la población con erradicación (Amass S y Cols, 1999). Respecto a *Mycoplasma hyopneumoniae*, ni bioseguridad, ni erradicación se aplican en Colombia.

El *Mycoplasma hyopneumoniae* es una bacteria extracelular, pero también intracelular facultativa (Raymond BBA y Cols, 2018). Algunos antibióticos se usan en el control y en la erradicación, por ser extracelulares e intracelulares, como ocurre con antibióticos macrólidos, pleuromutilinas y las lincosamidas (Carbon C, 1995; Scorneaux y Shryock, 2009). Por ejemplo, la tilmicosina y la tiamulina de forma alterna se han usado eficazmente en el tratamiento y en protocolos de erradicación del *Mycoplasma hyopneumoniae*.

Control

El control de la enfermedad implica reducción de la frecuencia de casos lo cual involucra procedimientos de uso común en Colombia tales como: destete temprano medicado de 21 días (no se aplica el Isoweat® <7 días), todo dentro-todo fuera, vacunación en gestantes, animales de reemplazo y la línea de producción y uso de antibióticos de manera profiláctica.

El método Isoweat® que desteta a menores de 7 días, nunca se aplicó en Colombia por falta de dietas adecuadas u otras variantes del destete temprano que aprovechan la inmunidad materna muy alta antes de la primera semana de vida, y así en combinación con el uso de antibióticos, se erradican patógenos específicos bacterianos (Pyburn y Schwartz K, 1995), tampoco el nacimiento por cesárea de forma ordinaria en hatos genéticos.

En Colombia, no se legislan perímetros de 1.6km como en el Reino Unido, y mucho menos se tiene reguladas estaciones de lavado de camiones. Estas medidas harían más factible la erradicación y las medidas de bioseguridad.

El método de aclimatación es una manera de inmunizar de forma controlada con

patógenos de granja. Así, a los animales de reemplazo se les inmuniza con vacunas y material infectante natural: saliva, heces del precebo, momias y placentas. Los cerdos descendientes de cerdas de reemplazo expuestas a *Mycoplasma hyopneumoniae*, no padecen neumonía enzootica en el periodo de ceba (Arsenakis y Cols, 2019; Laura Garza-Moreno y Cols, 2018).

Vacunación

Esquemas: (a) vacunación temprana en la primera semana de vida, con repetición al destete. (b) vacunación al destete unidosis o con repetición a las 3 semanas. (c) vacunación a la madre (día 80 de gestación) y a lechones vacunación de una o 2 dosis a partir de los 28 días. La vacunación en gestantes y lechones, resulta en menos lesiones pulmonares de los cerdos al sacrificio (Sibila y Cols, 2008; Arsenakis y Cols, 2019).

La inmunoglobulina A-IgA de mucosa, bloquea la adherencia del *M. hyopneumoniae* a las cilias. La inmunidad mediada por células confiere protección, por activación de los macrófagos por parte de linfocitos Th1, Th17 y CD8+ (Matthijs y Cols, 2019). Las cepas con antígenos J y variantes J11 son las más usadas, y su presencia superficial es de sólo 2%, razón de uso de proteínas recombinantes. (Reolon y Cols, 2014).

Referencias

VAN HANDEL. Pig Progress magazine - Volume 32.1, 2016.

ASOCIACIÓN-PORKOLOMBIA. Fondo Nacional de la Porcicultura. Informe de los Proyectos de Inversión Desarrollados Durante el año 2020.

Primer Informe sobre la Ocurrencia de la Neumonía Enzootica Porcina o VPP en Colombia. Gustavo Morales* y ED Roberts**. 1967. *Contribución del Programa Nacional de Medicina Veterinaria. Instituto Colombiano Agropecuario, ICA. **Patólogo adjunto (Fundación Rockefeller), *Laboratorio de Investigaciones Médicas Veterinarias (ICA), Ciudad Universitaria, Bogotá. Respectivamente.

GUZMÁN et al. Correlación entre las lesiones macroscópicas e histopatológicas de la Neumonía Enzoótica y la detección del *Mycoplasma hyopneumoniae* por PCR anidada en lavados bronco alveolares en cerdos. Rev. Med. Vet. Zoot. 2008. 55:39-48, 2008.

PULIDO et al. Estandarización y Aplicación de la Técnica de PCR Anidado para la Detección de *Mycoplasma hyopneumoniae*. Rev. Med. Vet. Zoot. 53: 22-32, 2006.

GEBHARDT et al. Postweaning mortality in commercial swine production II: review of infectious contributing factors. Transl. Anim. Sci. 4:p485-506, 2020.

ASSAO S et al. Genetic variation of *Mycoplasma hyopneumoniae* from Brazilian field samples. BMC Microbiology. 19:234, 2019.

BETLACH et al. *Mycoplasma hyopneumoniae* genetic variability within swine production flows. The Canadian

Journal of Veterinary Research; 84: 310-313, 2020.

NEWMAN et al. Increased prevalence of EPAS1 variant in cattle with high-altitude pulmonary hypertension. Nature Communications; 6: 6863, 2015.

KLEINSASSER & COL. A pig model of high-altitude pulmonary edema. High Alt Med Biol. Winter. 4(4):465-74, 2003.

VANGROENWEGHE & COL. *Mycoplasma hyopneumoniae* infections in peri-weaned and post-weaned pigs in Belgium and The Netherlands: Prevalence and associations with climatic conditions. The Veterinary Journal Volume 205, Issue 1, July 2015, Pages 93-97, 2015.

STARK et al. Detection of *Mycoplasma hyopneumoniae* by Air Sampling with a Nested PCR Assay. Applied and environmental microbiology. Feb. p543-548, 1998.

MILLER. Swine Feed Efficiency: Influence of Temperature. Iowa Pork Industry Center Fact Sheets. 11, 2012. Disponible em: http://lib.dr.iastate.edu/ipic_factsheets/11

BROWNE et al. Low temperature and dust favour in vitro survival of *Mycoplasma hyopneumoniae*: time to revisit indirect transmission in pig housing. Letters in Applied Microbiology 64, 2-7, 2016.

AGUALIMPIA et al. Agua y ambiente Experiencias y reflexiones frente al desarrollo sostenible y sustentable. Bogotá: Universidad Distrital Francisco José de Caldas. 102 páginas. ISBN 978-958-787-038-1, 2018.

PETERS et al. Distribution of Particle and Gas Concentrations in Swine Gestation Confined Animal Feeding Operations. Ann. Occup. Hyg., Vol. 56, No. 9, pp. 1080-1090, 2012.

- DEWEY et al. Measuring ammonia concentrations in the barn using the Draeger and PHydrion tests. *Swine Health and Production*. May-June. Vol 8, No. 3. p127-131, 2000.
- WANG & COLS. Inhalation of swine dust induces cytokine release in the upper and lower airways. *Eur Respir J* 1997; 10: 381-387, 1997.
- BACKSTROM & CURTIS. Housing and Environmental Influences on Production. p884-900, en *Diseases of Swine*. Allen D. Leman et al., Iowa State University Press. United States of America, 1992.
- BAKER. Effective Environmental Temperature. *J Swine Health Prod*. 12(3):140-143, 2004.
- AMASS et al. Biosecurity considerations for pork production units. *Swine Health Prod*. 7 (5); 217-228, 1999.
- RAYMOND et al., 2018. *Mycoplasma hyopneumoniae* resides intracellularly within porcine epithelial cells. *Scientific Reports*. 8:17697
- CARBON, 1995. Clinical relevance of intracellular and extracellular concentrations of macrolides. *Infection* volume 23, p10-14
- SCORNEAUX & SHRYOCK, 2009. Intracellular accumulation, subcellular distribution and efflux of tilmicosin in swine phagocytes. *J. vet. Pharmacol. Therap*. 21, 257±268
- PYBURN & SCHWARTZ, 1995. A Review of Segregated Early Weaning, *Iowa State University Veterinarian*: Vol. 57: Iss. 2, Article 4. Available at: https://lib.dr.iastate.edu/iowastate_veterinarian/vol57/iss2/4
- ARSENAKIS et al., 2019. Effects of pre-farrowing sow vaccination against *Mycoplasma hyopneumoniae* on offspring colonisation and lung lesions. *Veterinary Record*. p1-10.
- GARZA-MORENO et al., 2018. Acclimation strategies in gilts to control *Mycoplasma hyopneumoniae* infection. *Vet Microbiol Jun*; 219:23-29
- MANEV, 2018. *Mycoplasma hyopneumoniae* infections in pigs-Measures of control (Review). *Tradition and Modernity in Veterinary Medicine*. Vol 3. No.2 (5): 9
- SIBILA et al., 2008. Effect of sow vaccination against *Mycoplasma hyopneumoniae* on sow and piglet colonization and seroconversion, and pig lung lesions at slaughter. *Veterinary Microbiology*. Volume 127, Issues 1-2, 5 Feb, Pages 165-170
- MAES et al., 2021. Perspectives for improvement of *Mycoplasma hyopneumoniae* vaccines in pigs. *Vet Res* (2021) 52:67. P1-20
- MAES et al., 1996. Enzootic pneumonia in pigs, *Veterinary Quarterly*, 18:3, 104-109
- BLYTHE et al., 1998. Evaluation of the Variability of *Mycoplasma hyopneumoniae* Circulating Antibodies in an Endemically Infected Non-Vaccinated Sow Herd and Subsequent Passive Maternal Antibodies in Piglets as Detected by Tween 20 ELISA. *Allen D. Leman Swine Conference*.
- MATTHIJS et al., 2019. Efcacy of three innovative bacterin vaccines against experimental infection with *Mycoplasma hyopneumoniae* *Vet Res*. 50:91
- REOLON et al., 2014. Survey of Surface Proteins from the Pathogenic *Mycoplasma hyopneumoniae* Strain 7448 Using a Biotin Cell Surface Labeling Approach. *Nov. Vol9. Issue 11*. P1-7



CA PI TU LO 04



Factores de virulencia y variabilidad genética de *Mycoplasma hyopneumoniae*

Karine Ludwig Takeuti, DVM, MSc, PhD.

Investigadora de Post-Doctorado en el Sector de Cerdos de la Facultad de Veterinaria de la Universidad Federal del Rio Grande del Sur (UFRGS) – Brasil

El nivel de colonización por *Mycoplasma* (M.) *hyopneumoniae* y el desarrollo de la neumonía enzoótica dependen de la capacidad de la bacteria para adherirse al epitelio ciliado del tracto respiratorio porcino (tráquea, bronquios y bronquiolos), lo que ocurre a través de adhesinas específicas. Estas proteínas son responsables por el enlace y colonización de la bacteria en las vías respiratorias, causando por consecuencia la ciliostasis y la destrucción de los cilios, perjudicando el sistema mucociliar, y ayudando a la bacteria en su diseminación por el árbol bronquial (Thacker & Minion, 2012).

Se han identificado varias adhesinas, pero se destacan algunas. Se sabe, por ejemplo, que la adherencia de la bacteria está muy relacionada con la interacción entre las adhesinas P97, P102 y P159 de *M. hyopneumoniae* con las células epiteliales ciliadas del tracto respiratorio. Además, la gran variedad de proteínas de superficie presentes en la bacteria juegan un papel importante en la virulencia de las cepas de *M. hyopneumoniae*, ya que pueden estar relacionadas con la capacidad de adherirse al huésped, favorecer la evasión del sistema inmunitario del animal y potenciar la invasión y multiplicación de la bacteria en los pulmones al aumentar la respuesta inflamatoria (Bogema et al., 2012; Meyns et al., 2007). *M. hyop-*

neumoniae es capaz de modular la respuesta inflamatoria y la acción del sistema inmunitario a nivel pulmonar estimulando la producción de citoquinas proinflamatorias que aumentan la inflamación en el pulmón y estimulan la hiperplasia del tejido linfocítico asociado a los bronquios (BALT; Meyns et al., 2007). Al mismo tiempo, la bacteria produce citoquinas antiinflamatorias que suprimen la acción de importantes células de defensa para persistir en el huésped, lo que puede estar relacionado con la cronicidad de la infección, siendo posible detectar el agente durante un largo periodo de tiempo en los pulmones de los cerdos infectados (Pieters & Maes, 2020). Otros factores de virulencia también están relacionados con la invasión, diseminación y destrucción celular, como el aumento de la concentración de calcio intracelular en las células epiteliales ciliadas infectadas (Park et al., 2002), la posible producción de peróxido de hidrógeno en presencia de glicerol (Ferrari et al., 2016), la inducción de la apoptosis a través de las lipoproteínas de membrana (Bai et al., 2013), y la formación de biopeículas en superficies inanimadas e in vivo, lo que dificultaría la acción del sistema inmune del cerdo para combatir la infección y contribuiría a la aparición de resistencia antimicrobiana (Raymond et al., 2018).

Mycoplasma hyopneumoniae tiene amplia variabilidad genética, antigénica, patogénica, proteómica y transcriptómica. Se sabe por varios estudios que la bacteria presenta una importante diversidad genética, observada en muchos países. La caracterización molecular de *M. hyopneumoniae* puede realizarse de diferentes maneras y no existe, hasta el momento, una definición de la mejor técnica a utilizar. Aunque la secuenciación del genoma completo de *M. hyopneumoniae* es un método que proporciona una gran cantidad de información, no es una técnica de rutina debido a las limitaciones de costo, acceso e interpretación de los resultados (Betlach et al., 2019). Por otro lado, la secuenciación de una región específica del gen que codifica la principal proteína de adhesión, también relacionada con la variación antigénica y la evasión del sistema inmunitario, denominada P146 (Betlach et al., 2019; Mayor et al., 2007), o el análisis de los patrones de repetición VNTR (Variable-Number Tandem Repeats) de las proteínas de superficie a través de la tipificación MLVA (Multiple-Locus Variable number tandem repeats Analysis) han sido las técnicas más accesibles y por tanto las más utilizadas para la identificación de variantes genéticas de la bacteria en Brasil (Dos Santos et al., 2015; Takeuti et al., 2017).

Con el avance de las técnicas de diagnóstico molecular y la mayor accesibilidad a estas tecnologías, se han realizado varios estudios sobre la variabilidad genética de *M. hyopneumoniae*, que han aportado información muy importante que puede utilizarse sobre el terreno. Se sabe, por ejemplo, que pueden detectarse varias variantes en un mismo animal y en una misma granja (Takeuti et al., 2017), que no existe protección cruzada entre variantes de distinto grado

de patogenicidad (Villarreal et al., 2009) y que el número de variantes en una población es directamente proporcional a la gravedad y a la aparición de lesiones pulmonares en el momento del sacrificio (Michiels et al., 2017). Este tipo de información es válida para un mejor control de la infección en las explotaciones positivas, para un mejor conocimiento epidemiológico o incluso en el seguimiento de las granjas que están en proceso de erradicación de *M. hyopneumoniae*. La evaluación cualitativa y cuantitativa de las variantes presentes en las granjas es interesante, sobre todo cuando se considera la adquisición de cerdas de reposición de origen positivo y la formación de pirámides sanitarias, especialmente cuando hay una mezcla de orígenes en la fase de cría.

La diversidad de virulencia entre las variantes de *M. hyopneumoniae* puede basarse en la gravedad de los signos clínicos, de las lesiones pulmonares macro y microscópicas, la tasa de transmisión de la bacteria y la intensidad de la respuesta inflamatoria, como ya se ha demostrado experimentalmente (Meyns et al., 2004; Meyns et al., 2007; Vicca et al., 2003). Aunque el análisis de la variabilidad genética de *M. hyopneumoniae* mediante MLVA tiene un alto poder discriminatorio, presenta una alta reproducibilidad y puede utilizarse a partir de muestras clínicas positivas (Dos Santos et al., 2015), el MLVA no permite identificar el grado de patogenicidad de las variantes de *M. hyopneumoniae*, que, hasta la fecha, sólo se diferencian mediante el aislamiento bacteriano y la inoculación in vivo. Por lo tanto, la identificación de marcadores moleculares de virulencia para *M. hyopneumoniae* todavía debe ser estudiada.

Referencias

- BAI, et al. *Mycoplasma hyopneumoniae*-derived lipid-associated membrane proteins induce apoptosis in porcine alveolar macrophage via increasing nitric oxide production, oxidative stress, and caspase-3 activation. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, v.155, p.155-161, 2013.
- BETLACH et al. *Mycoplasma hyopneumoniae* variability: current trends and proposed terminology for genomic classification. *Transboundary and Emerging Diseases*, v.00, p.1-15, 2019.
- BOGEMA et al. Characterization of cleavage events in the multifunctional cilium adhesin Mhp684 (P146) reveals a mechanism by which *Mycoplasma hyopneumoniae* regulates surface topography. *MBio*, v.3, p.1-11, 2012.
- DOS SANTOS et al. Genotype distribution of *Mycoplasma hyopneumoniae* in swine herds from different geographical regions. *Veterinary Microbiology*, v.175, p.374-381, 2015.
- FERRARINI et al. Insights on the virulence of swine respiratory tract mycoplasmas through genome-scale metabolic modeling. *BMC Genomics*, v.17, p.353, 2016.
- MAYOR et al. Diversity of *Mycoplasma hyopneumoniae* in pig farms revealed by direct molecular typing of clinical material. *Veterinary Research*, v.38, p.391-398, 2007.
- MEYNS et al. Quantification of the spread of *Mycoplasma hyopneumoniae* in nursery pigs using transmission experiments. *Preventive Veterinary Medicine*, v.66, p.265-275, 2004.
- MEYNS et al. Interactions of highly and low virulent *Mycoplasma hyopneumoniae* isolates with the respiratory tract of pigs. *Veterinary Microbiology*, v.120, p.87-95, 2007.
- MICHIELS et al. Impact of diversity of *Mycoplasma hyopneumoniae* strains on lung lesions in slaughter pigs. *Veterinary Research*, v.48, p.1-14, 2017.
- PARK et al. *Mycoplasma hyopneumoniae* increases intracellular calcium release in porcine ciliated tracheal cells. *Infection and Immunity*, v.70, p.2502-2506, 2002.
- PIETERS & MAES. Mycoplasmosis. In: *Diseases of Swine*. Zimmerman, J.J.; Karriker, L.A.; Ramirez, A.; Schwartz, K.J.; Stevenson, G.W. & Zhang, J. (Eds). Iowa: Wiley Blackwell. 11th ed. p.863-883, 2019.
- RAYMOND et al. Extracellular actin is a receptor for *Mycoplasma hyopneumoniae*. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, v.8, p.54, 2018.
- TAKEUTI et al. Infection dynamics and genetic variability of *Mycoplasma hyopneumoniae* in self-replacement gilts. *Veterinary Microbiology*, v.208, p.18-24, 2017b.
- THACKER & MINION. Mycoplasmosis. In: *Diseases of Swine*. Zimmerman, J.J.; Karriker, L.A.; Ramirez, A.; Schwartz, K.J. & Stevenson, G.W. (Eds.). Chichester: John Wiley & Sons, Inc. 10th ed. p.779-797, 2012.
- VICCA et al. Evaluation of virulence of *Mycoplasma hyopneumoniae* field isolates. *Veterinary Microbiology*, v.97, p.177-90, 2003.
- VILLARREAL et al. Infection with a low virulent *Mycoplasma hyopneumoniae* isolate does not protect piglets against subsequent infection with a highly virulent *M. hyopneumoniae* isolate. *Vaccine*, v.27, p.1875-9, 2009.



CAPITULO 05



Inmunobiología aplicada a *Mycoplasma hyopneumoniae*

Rafael Frandoloso, DVM., Ph.D.

Profesor de Microbiología e Inmunología. Laboratorio de Microbiología e Inmunología Avanzada, Universidad de Passo Fundo, RS – Brasil

Las enfermedades del complejo respiratorio de los porcinos (ERP) tienen distribución mundial y se presentan de manera endémica en la mayoría de las granjas. Una de las principales ERP es la Neumonía Enzoótica Porcina (NEP) causada por el *Mycoplasma hyopneumoniae* (*Mhyo*). *Mhyo* se difunde fácilmente a través del aliento, contacto directo "hocico a hocico" y por aerosoles hasta 3 km de distancia. Después de la infección, la bacteria se adhiere a los cilios de las células epiteliales del tracto respiratorio causando aglomeración y ocasionalmente la muerte de las células. Esto perjudica el funcionamiento del sistema mucociliar, predispone el desarrollo de patologías secundarias producidas por Circovirus porcino tipo 2, PRRS, Pasteurella multocida, Actinobacillus pleuropneumoniae, Glaesserella parasuis y Streptococcus suis (Figura 1).

Mycoplasma hyopneumoniae: consecuencias de la infección

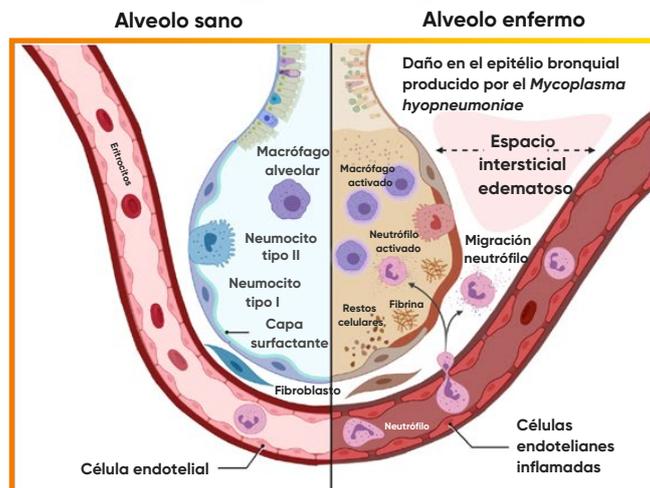
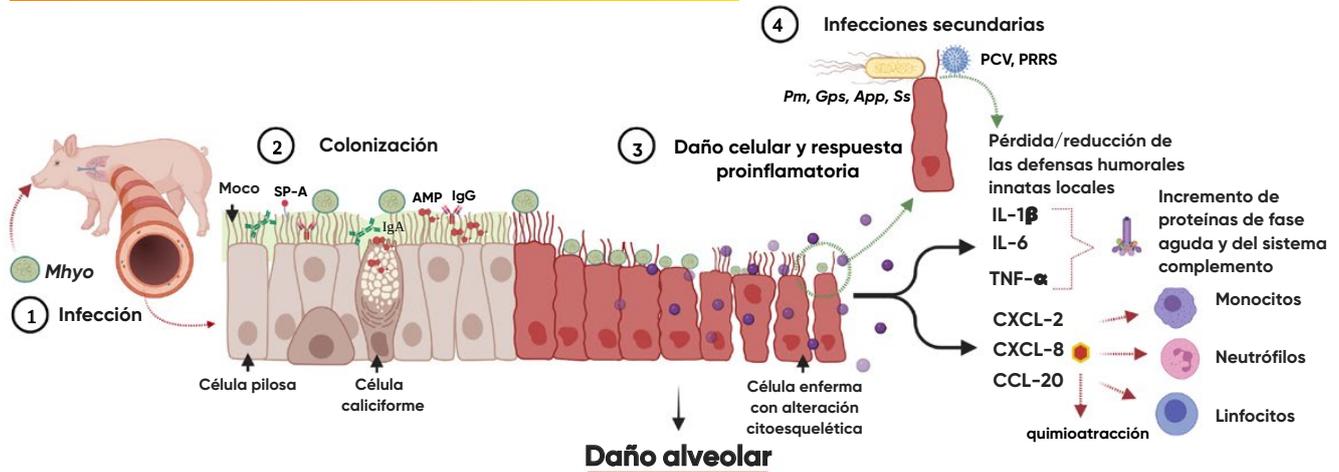


Figura 1. Principales etapas y consecuencias del proceso de infección producido por *Mycoplasma hyopneumoniae*. Figura creada con BioRender.com y revisada por Dr. Nelson Morés.

El control de las ERP requiere la utilización combinada de varias herramientas. Las buenas prácticas de manejo contribuyen para el mantenimiento de la salud de los animales. Sin embargo, posiblemente, no impiden la entrada y/o mantenimiento de animales infectados de manera crónica que difunden patógenos. La utilización de antimicrobianos puede mostrarse efectiva en determinadas circunstancias, pero el efecto es paliativo. Además, la utilización prolongada, o cuando se administra de manera inadecuada, puede favorecer la aparición de bacterias resistentes. En este escenario, la utilización estratégica de vacunas representa la mejor alternativa para controlar microorganismos patógenos. Sin embargo, de manera general, debido a la diversidad antigénica de los microorganismos patógenos, la protección ofrecida por algunas vacunas aprobadas es incompleta por diferentes motivos: (i) diferencias antigénicas entre el antígeno de la vacuna y las cepas clínicas; (ii) vacunas poco inmunogénicas y que inducen inmunidad de corta duración; y (iii) vacunas que modulan inadecuadamente el sistema inmunológico. Todas estas características se relacionan con el éxito y/o fracaso en la prevención de la enfermedad pulmonar causada por *M. hyopneumoniae*.

La prevención de NEP está basada esencialmente en la utilización de vacunas inactivadas; varias evidencias demuestran que muchas vacunas reducen la incidencia de signos clínicos en animales infectados, disminuyen la gravedad de las lesiones pulmonares, incrementan el aumento de peso diario y disminuyen infecciones bacterianas y virales secundarias. Los mecanismos inmunológicos responsables por el control de la infección, aunque todavía no estén completamente dilucidados, parecen estar asociados con la estimulación de subpoblaciones de linfocitos T helper 1 (Th1) secretores de

INF- γ , así como de linfocitos B secretores de anticuerpos funcionales sistémicos y de mucosa.

En cuanto a la respuesta inmune de base celular, la presencia de linfocitos Th1 asociados a la mucosa respiratoria estimula la activación de macrófagos alveolares y, consecuentemente, aumenta la velocidad de reconocimiento y remoción bacteriana. En este caso, los Receptores de Tipo Toll 2 y 6 (TLR-2 y 6) ejercen un papel importante en el reconocimiento de lipoproteínas diaciladas de *Mhyo*.

A diferencia de los macrófagos alveolares, que se han estudiado durante décadas en el contexto de la NEP, el papel de los neutrófilos en la detección y destrucción de *Mhyo* no ha sido muy explorado científicamente. Los neutrófilos participan efectivamente en el control de muchas infecciones bacterianas y virales de interés porcino; y la acción de los neutrófilos es potenciada cuando el patógeno está recubierto por opsoninas. Por tratarse de una célula de la respuesta inmune innata, la membrana celular de los neutrófilos es formada por un mosaico muy variado de receptores que reconocen varias opsoninas como las moléculas del sistema del complemento, inmunoglobulinas y proteínas de fase aguda, entre otras, que están presentes a lo largo del proceso de infección de *Mhyo*. Diferentemente de los macrófagos y células dendríticas, los neutrófilos producen moléculas microbicidas (hipohaluros) a partir de moléculas reactivas de oxígeno, y también pueden exocitar su propio material genético, formando una red tóxica de ADN extracelular, que no es eficaz contra las cepas *Mhyo* que expresan la proteína Mhp597. En nuestro laboratorio, utilizando un sistema refinado de análisis de fagocitosis observamos que *Mhyo* es eficientemente capturado y destruido por neutrófilos porcinos cuando es opsonizado por IgGs de vacunas sugi-

riendo que estas células, cuando son atraídas al lugar de infección, puedan ejercer un papel importante en la lucha contra *Mhyo*. También, el desempeño de la fagocitosis fue dependiente de la vacuna aprobada utilizada, indicando que la respuesta funcional de los anticuerpos inducidos por las vacunas no es la misma. En este mismo sentido, otros estudios demuestran la implicación de la respuesta Th17 y de los neutrófilos en la lucha efectiva contra *Mycoplasma pulmonis*, reforzando el papel de estas células en el contexto de la infección.

Durante el proceso de infección natural o experimental de *Mhyo* se observa la producción de anticuerpos sistémicos y de mucosa, indicando que naturalmente el sistema inmunológico desarrolla una respuesta basada en IgGs y IgAs para controlar la infección. Además, la velocidad con la que esta respuesta es producida es dependiente de las características antigénicas y de virulencia de la cepa de *Mhyo* que esté produciendo la infección. El ritmo de producción de anticuerpos en los cerdos tras la infección es bastante variable; algunos estudios controlados demuestran la presencia de IgGs entre 3 y 4 semanas después de la infección, pero otros estudios indican que la seroconversión se produce sólo 10 semanas después de la infección. En nuestras manos, los cerdos no vacunados infectados experimentalmente con 108 *Mhyo* desarrollaron IgGs específicas aproximadamente a las 7 semanas después de la infección; en este momento, el 100% de los animales presentaban lesiones pulmonares patognomónicas de *Mhyo*.

Debido a la progresión lenta y crónica de la infección y a que la respuesta inmunológica sigue la misma tendencia, es evidente que la producción de anticuerpos ocurre después del desarrollo de lesiones y, consecuentemente, su rol es más restricto al control de la progresión de lesiones ya

existentes. Por otro lado, la inducción de anticuerpos funcionales mediante la vacunación antes de que se establezca el proceso de infección puede ejercer un efecto diferente; en este caso, los anticuerpos pueden mediar la destrucción de *Mhyo* por fagocitosis (demostrado), la activación de la vía clásica del sistema del complemento (aún por demostrar; *Mhyo* evade la vía alternativa), o por la actividad citotóxica celular dependiente de anticuerpos (aún por demostrar); y por lo tanto prevenir el desarrollo de lesiones pulmonares. Es importante mencionar que *Mhyo* tiene genes que codifican proteínas de unión a la inmunoglobulina (MIB) y una proteasa que puede escindir anticuerpos (MIP). Sin embargo, el rol de este sistema de evasión de la respuesta de los anticuerpos aún no se ha caracterizado en el contexto de la infección producida por *Mhyo*.

En cualquier caso, los cambios funcionales en el sistema muco-ciliar producidos por *Mhyo* pueden impactar negativamente en la respuesta humoral adaptativa (inmunoglobulinas) e innata (péptidos antibacterianos, por ejemplo) contra cualquier patógeno respiratorio (Figura 1). La mucina, por ejemplo, es indispensable para el mantenimiento de los anticuerpos en el epitelio respiratorio y, en su ausencia, aumenta la velocidad de adhesión del patógeno al epitelio y reduce la posibilidad de que los anticuerpos se mantengan en concentraciones lo suficientemente elevadas como para i) neutralizar las moléculas *Mhyo* relacionadas con la adhesión del huésped o la captación de nutrientes, y ii) destruir el microorganismo mediante vías efectoras dependientes de los anticuerpos.

Durante muchos años se pensó que la respuesta de anticuerpos de las mucosas estaba mediada exclusivamente por IgAs secretoras y que su producción estaba condicionada a los estímulos infecciosos

directamente en la mucosa, o mediante el uso de vacunas potenciadas con adyuvantes capaces de romper la tolerancia antigénica observada en la mucosa. En la actualidad, sabemos que otras clases de IgG constituyen el repertorio de inmunoglobulinas antimicrobianas que establecen las infecciones de las mucosas, y que estas inmunoglobulinas pueden producirse eficazmente a partir de la inmunización sistémica mediante vacunas de aplicación intradérmica e intramuscular.

Recientemente, a través de estudios controlados utilizando porcinos convencionales libres de anticuerpos contra *Mhyo*, observamos que la carga antigénica de *Mhyo* incluida en vacunas experimentales afecta no solo la inmunogenicidad de la vacuna, pero también a su capacidad protectora frente al desafío experimental controlado, con una cepa virulenta de *Mhyo*. En este estudio, animales vacunados con una formulación poco inmunogénica (bajos niveles de anticuerpos detectados en 30% de los animales en el momento pre-desafío), se desarrollan lesiones patológicas superiores (IPP = 1.0) cuando son comparados con animales vacunados con una formulación inmunogénica. Al desafío, 100% de los animales presentaban IgGs anti-*Mhyo* y a la necropsia prácticamente no presentaban lesiones pulmonares (IPP = 0.2). En este mismo estudio, animales inmunizados con una vacuna aprobada e inmunogénica presentaron a la necropsia, menos lesiones (IPP = 0.5) en cuanto al grupo control no inmunizado (IPP = 1.4). Cuando analizamos las dos vacunas con mejor desempeño clínico y patológico, observamos que el grupo con mejor desempeño pulmonar presentaba niveles de anticuerpos inferiores en cuando al grupo inmunizado con producto aprobado

en el momento pre-desafío (OD 0.585 vs OD 0.899); sugiriendo (i) que la intensidad de la respuesta de anticuerpos no es un parámetro absoluto para predecir la protección, y (ii) que la funcionalidad de estas moléculas tiene mayor relevancia en el contexto del control de infecciones.

M. hyopneumoniae es un microorganismo con un sofisticado repertorio de factores de virulencia y que sigue siendo destaque entre las ERP. La ciencia ha presentado diferentes plataformas para la producción de nuevas vacunas, y la industria farmacéutica, entre bastidores, ha formulado y evaluado nuevos biológicos capaces de controlar los impactos negativos que el *Mhyo* sigue produciendo en la industria porcina. Evidentemente, la formulación de una vacuna ideal contra *Mhyo* es un desafío multifacético; por un lado, el producto debe tener características inmunológicas que garanticen la protección (respuesta mixta basada en linfocitos Th1 y anticuerpos funcionales sistémicos y de las mucosas) y, por otro, la vacuna debe ser económicamente viable. En cuanto a la primera, las características antigénicas de la cepa vacunal, el ajuste de la carga antigénica y la estrategia de modulación inmunológica mediante el adyuvante son responsables de la inducción de las respuestas efectoras que controlarán la infección (Figura 2); en cuanto a la segunda, destacamos que el costo para la producción industrial de *Mhyo* es bastante elevado en relación con otros patógenos bacterianos y virus respiratorios de interés porcino. La carga antigénica necesaria para alcanzar la respuesta protectora deseada puede representar un desafío en el cálculo compuesto de viabilidad del producto.

Respuestas efectoras asociadas al control de *Mycoplasma hyopneumoniae*

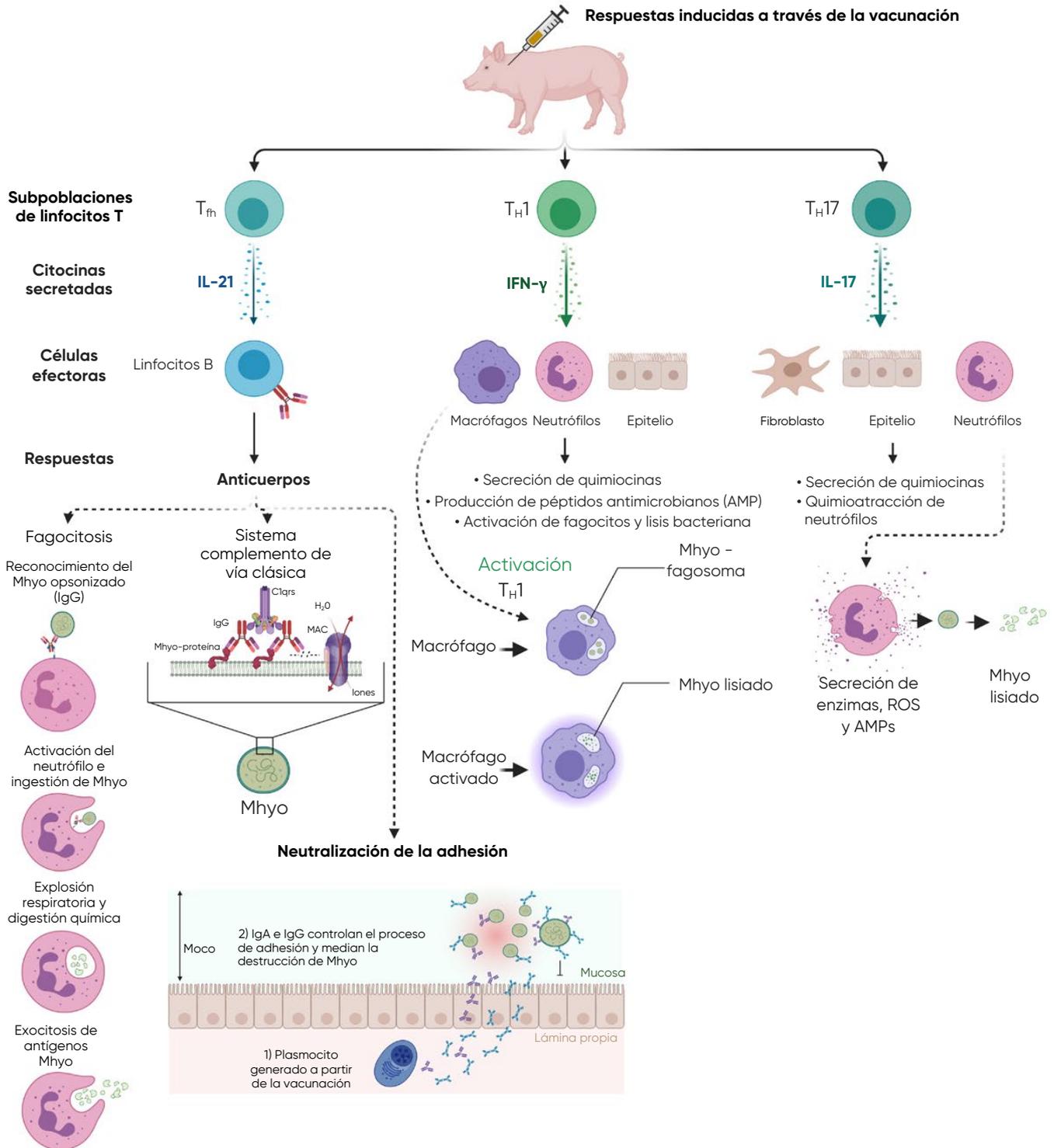


Figura 2. Mecanismos inmunológicos efectoras asociadas al control de *Mycoplasma hyopneumoniae*. Diferentes perfiles de respuestas inmunológicas pueden ser desarrollados durante el proceso de vacunación. La composición de la vacuna (antígenos y adyuvantes) determinará el número de mecanismos efectoras que controlarán el proceso de infección de *M. hyopneumoniae*. Figura creada con BioRender.com.

Referencias

- Arsenakis, I., Michiels, A., Del Pozo Sacristan, R., Boyen, F., Haesebrouck, F., Maes, D., 2017. *Mycoplasma hyopneumoniae* vaccination at or shortly before weaning under field conditions: a randomised efficacy trial. *The Veterinary record* 181, 19.
- Biebaut, E., Beuckelaere, L., Boyen, F., Haesebrouck, F., Gomez-Duran, C.O., Devriendt, B., Maes, D., 2021. Transfer of *Mycoplasma hyopneumoniae*-specific cell mediated immunity to neonatal piglets. *Veterinary research* 52, 96.
- Li, P., Zhang, Y., Li, X., Zhou, W., Li, X., Jiang, F., Wu, W., 2019. *Mycoplasma hyopneumoniae* Mhp597 is a cytotoxicity, inflammation and immunosuppression associated nuclease. *Veterinary microbiology* 235, 53-62.
- Maes, D., Boyen, F., Devriendt, B., Kuhnert, P., Summerfield, A., Haesebrouck, F., 2021. Perspectives for improvement of *Mycoplasma hyopneumoniae* vaccines in pigs. *Veterinary research* 52, 67.
- Martelli, P., Saleri, R., Cavalli, V., De Angelis, E., Ferrari, L., Benetti, M., Ferrarini, G., Meriardi, G., Borghetti, P., 2014. Systemic and local immune response in pigs intradermally and intramuscularly injected with inactivated *Mycoplasma hyopneumoniae* vaccines. *Veterinary microbiology* 168, 357-364.
- Michiels, A., Arsenakis, I., Boyen, F., Krejci, R., Haesebrouck, F., Maes, D., 2017. Efficacy of one dose vaccination against experimental infection with two *Mycoplasma hyopneumoniae* strains. *BMC veterinary research* 13, 274.
- Sieve, A.N., Meeks, K.D., Bodhankar, S., Lee, S., Kolls, J.K., Simecka, J.W., Berg, R.E., 2009. A novel IL-17-dependent mechanism of cross protection: respiratory infection with mycoplasma protects against a secondary listeria infection. *Eur J Immunol* 39, 426-438.
- Tao, Y., Shu, J., Chen, J., Wu, Y., He, Y., 2019. A concise review of vaccines against *Mycoplasma hyopneumoniae*. *Research in veterinary science* 123, 144-152.
- Yu, Y., Wang, J., Han, R., Wang, L., Zhang, L., Zhang, A.Y., Xin, J., Li, S., Zeng, Y., Shao, G., Feng, Z., Xiong, Q., 2020. *Mycoplasma hyopneumoniae* evades complement activation by binding to factor H via elongation factor thermo unstable (EF-Tu). *Virulence* 11, 1059-1074.



CAPITULO 06



¿Por qué es necesario actualizar las vacunas contra *Mycoplasma hyopneumoniae*?

Dominiek Maes, DVM, PhD, MS, MSc, Dipl. ECVPH.

EBVS® Especialista Veterinario Europeo en Gestión de Sanidad Porcina
Facultad de Medicina Veterinaria, Universidad de Ghent, Bélgica

Introducción

Mycoplasma hyopneumoniae (*M. hyopneumoniae*) es el patógeno primario de la neumonía enzoótica, una enfermedad respiratoria crónica en porcinos y uno de los principales agentes implicados en el complejo de enfermedades respiratorias de porcinos (PRDC; Pieters e Maes, 2019). El organismo es identificado principalmente en la superficie mucosa de la tráquea, bronquios y bronquiolos. Afecta al sistema de limpieza de la mucosa al interrumpir los cilios de la superficie epitelial y, además, el organismo modula el sistema inmunitario de las vías respiratorias [Summerfield, 2020]. Por lo tanto, *M. hyopneumoniae* predispone a los animales a infecciones simultáneas con otros patógenos respiratorios.

El control de las infecciones por *M. hyopneumoniae* en poblaciones de porcinos puede ser realizado optimizando las prácticas de manejo, asignación y bioseguridad [Marco et al. 2020]. La vacunación contra *M. hyopneumoniae* también es una herramienta muy útil para controlar las infecciones por *M. hyopneumoniae*. Diferentes vacunas están disponibles en el mercado y la vacunación es frecuentemente practicada en todo el mundo. El presente capítulo discute las ventajas y desventajas de las vacunas comerciales actuales contra la *M. hyopneumoniae*.

Tipos de vacunas

Las vacunas comerciales consisten principalmente en preparados de células enteras inactivadas y adyuvantes (para una visión general, véase Maes et al. [2020]). La mayoría de las vacunas se basan en la cepa J, posiblemente porque es la *M. hyopneumoniae*. Esta cepa fue aislada en 1963, en un brote de neumonía enzoótica en el Reino Unido. Las vacunas bacterianas comerciales están autorizadas para la vacunación simple o doble, y existen combinaciones con circovirus porcino tipo 2 (PCV-2) o Glaesserella parasuis. La mayoría de las vacunas bacterianas deben administrarse por vía intramuscular, pero algunas bacterias también están autorizadas para la administración intradérmica. También está disponible comercialmente una vacuna inactivada basada en antígenos solubles de *M. hyopneumoniae* [Park et al. 2016].

Vacunas atenuadas contra *M. hyopneumoniae* fueron aprobadas en México y en China [Feng et al 2013]. La vacuna en México es un mutante termosensible de *M. hyopneumoniae* (cepa LKR) que debe aplicarse por vía intranasal. La cepa china de la vacuna atenuada se deriva de una cepa virulenta de la línea germinal 168 aislada en 1974 de un cerdo de Er-hua-nia con neumonía enzoótica [Feng et al. 2010]. Esta cepa de campo se atenuó gradualmente mediante el

paso continuo y alternativo por el medio Friis modificado y los cerdos. La cepa atenuada contiene 60 inserciones y 43 deleciones en comparación con la cepa original de tipo salvaje. Las mutaciones en los genes relacionados con el metabolismo y el crecimiento pueden contribuir a la virulencia atenuada, además de las variaciones en las adhesiones de *M. hyopneumoniae*, proteínas de la envoltura celular, antígenos de la superficie de la célula y proteínas secretadas y proteínas chaperonas [Liu et al. 2013]. La cepa de la vacuna china se utiliza principalmente por administración intrapulmonar [Feng et al. 2010]. La virulencia residual y/o la reversión a una mayor virulencia pueden suponer un riesgo con las vacunas atenuadas, aunque la vacuna china se ha utilizado durante muchos años sin que se hayan registrado efectos secundarios.

Mecanismos de protección después de la vacunación

Las vacunas comerciales inducen una protección parcial contra *M. hyopneumoniae*. Sin embargo, los mecanismos inmunitarios que dan lugar a una protección parcial no se han dilucidado del todo. Varios estudios han observado menores niveles de citoquinas proinflamatorias asociadas a la hiperplasia linfoide y a las lesiones de neumonía, como el TNF- α , la IL-6 y la IL-1 β en cerdos vacunados contra *M. hyopneumoniae* en comparación con los no vacunados [Marchioro et al. 2013; Michiels et al. 2017]. Además, los cerdos vacunados tenían un mayor número de células productoras de IL-10 en sus ganglios linfáticos bronquiales, lo que puede tener un efecto antiinflamatorio [Marchioro et al. 2013]. De hecho, Vranckx et al. [2012] demostró que la vacunación reduce la infiltración de macrófagos en el BALT de porcinos infectados experimentalmente. Estos resultados sugieren que la vacunación modula la infiltración de

células inmunitarias, así como la secreción de citoquinas pro y antiinflamatorias, lo que resulta en una reducción de la lesión pulmonar. También es posible que la reducción de las respuestas inflamatorias sea consecuencia de una menor carga bacteriana.

El número de animales seroconvertidos tras la vacunación, así como los niveles de anticuerpos inducidos en los lavados séricos y respiratorios pueden variar dependiendo de la composición de la vacuna, de la vía de administración y del estado de infección del animal [Maes et al. 2020]. Los anticuerpos séricos son normalmente detectados de dos a cuatro semanas después de la vacunación en dos dosis y permanecen detectables por semanas a meses. En ausencia de infecciones naturales que refuercen el sistema inmunitario, los niveles de anticuerpos caen por debajo de los límites de detección entre uno y tres meses después de la vacunación. Los estudios iniciales indican que no hay correlación entre los niveles de anticuerpos inducidos por la vacuna, pero la comprensión del papel de los anticuerpos requiere una investigación futura. Las vacunas vivas atenuadas aplicadas por vía mucosa podrían, en teoría, inducir una respuesta local de IgA que podría prevenir la colonización, pero, hasta donde sabemos, no se ha informado de tales datos.

Varios estudios han encontrado un aumento de las células secretoras de IFN- γ y específicas para *M. hyopneumoniae* en la sangre y tejido pulmonar de animales vacunados [Marchioro et al. 2013, 2014; Martelli et al. 2014; Michiels et al. 2017]. Se reconoce que estas células, características de las respuestas Th1 locales y sistémicas, desempeñan un papel importante en la protección inducida por la vacuna.

Eficacias de vacunas comerciales

Las principales ventajas en la vacunación de los lechones están relacionadas con el aumento del bienestar de los animales y la disminución de las pérdidas de rendimiento debidas a las infecciones por *M. hyopneumoniae*: mejora en el aumento de peso diario (2-8%), del índice de conversión alimenticia (2-5%) y, a veces, en la tasa de mortalidad. Además, hay menos tiempo para alcanzar el peso de sacrificio, menos variación en el peso de sacrificio (carcasas más homogéneas), menores signos clínicos (tos), menor prevalencia y gravedad de las lesiones típicamente causadas por *M. hyopneumoniae* y menores costos de tratamiento. Las vacunas utilizadas actualmente reducen el número de organismos de *M. hyopneumoniae* en el tracto respiratorio [Vranckx et al. 2012] y disminuyen el nivel de infección en una población [Sibila et al. 2007].

Diferentes factores que pueden influir en la eficacia de la vacuna han sido descritos por Maes et al. [2020]. Los factores más importantes son el incumplimiento de los principios básicos de las buenas prácticas de vacunación, el estrés en el momento de la vacunación, las infecciones con otros patógenos en el momento de la vacunación, las coinfecciones importantes implicadas en la PRDC, la variedad de cepas de *M. hyopneumoniae* y la inmunidad materna. Munyaka et al. (2020) también sugirieron el papel de la composición de la microbiota intestinal antes de la vacunación para influir en las respuestas a la vacuna contra *M. hyopneumoniae*, aun-

que los índices de diversidad bacteriana por sí solos no predecían las respuestas entre los cerdos individuales.

Las desventajas de las vacunas actuales son que la protección contra los signos clínicos y las lesiones típicamente causadas por *Mycoplasma hyopneumoniae* suele ser incompleta y la vacunación no evita la colonización. Los modelos de transmisión bajo condiciones experimentales [Meyns et al. 2006] y de campo [Villarreal et al. 2011] también mostraron que la vacunación sólo confiere una reducción limitada y no significativa de la tasa de transmisión de *M. hyopneumoniae*. Nuevas vacunas y/o vías de administración son, por lo tanto, necesarias.

Conclusión

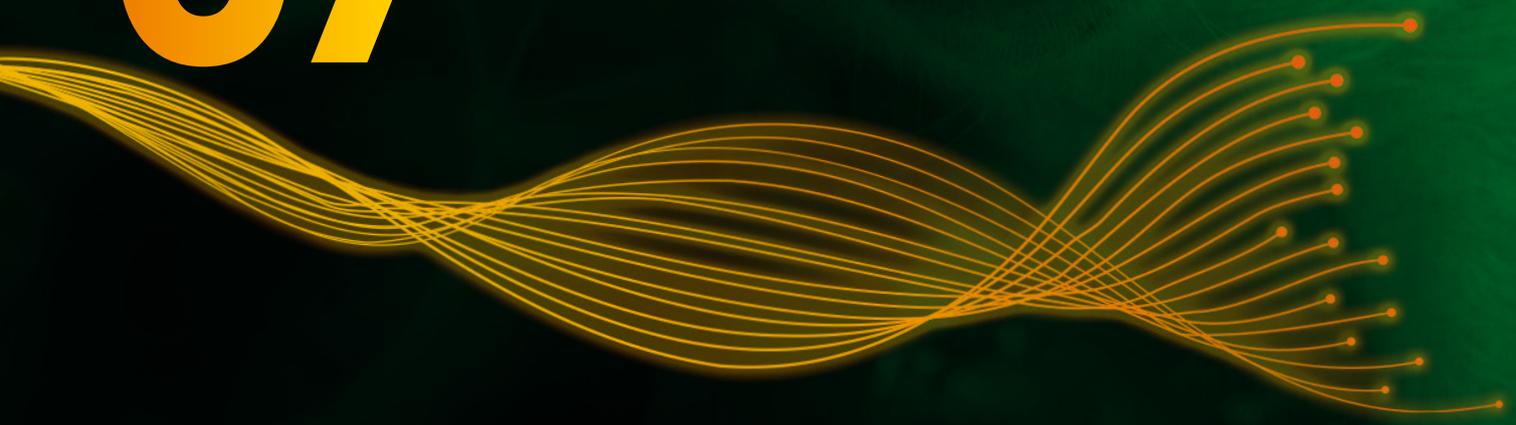
La vacunación contra *M. hyopneumoniae* es frecuentemente practicada en todo el mundo. Disminuye los signos clínicos y las lesiones pulmonares debidas a las infecciones por *Mycoplasma hyopneumoniae*, las pérdidas de rendimiento de los animales y el uso de antimicrobianos. Aunque las vacunas comerciales son rentables en muchas granjas, sólo inducen una protección parcial y no previenen la infección. Por lo tanto, deben desarrollarse nuevas vacunas más eficaces. Dado que las respuestas celulares mediadas y también las respuestas humorales de la mucosa son importantes para la protección, nuevas vacunas deben apuntar para estos brazos de la respuesta inmunitaria.

Referencias

- Feng Z, Shao G, Liu M, Wu X, Zhou Y, Gan Y (2010) Immune responses to the attenuated *Mycoplasma hyopneumoniae* 168 strain vaccine by intrapulmonic immunization in piglets. *Agr Sci China* 9:423–431
- Feng Z, Wei Y, Li G, Lu X, Wan X, Pharr G, Wang Z, Kong M, Gan Y, Bai F, Liu M, Xiong Q, Wu X, Shao G (2013) Development and validation of an attenuated *Mycoplasma hyopneumoniae* aerosol vaccine. *Vet Microbiol* 167:417–424
- Liu W, Xiao S, Li M, Guo S, Li S, Luo R, Feng Z, Li B, Zhou Z, Shao G, Chen H, Fang L (2013) Comparative genomic analyses of *Mycoplasma hyopneumoniae* pathogenic 168 Strain and its high-passaged attenuated strain. *BMC Genomics* 14:80
- Maes D, Boyen F, Dellagostin O, Shao G, Haesebrouck F (2020) In: Book *Mycoplasmas in Swine*. Chapter 11. Editors: Dominiek Maes, Marina Sibila, Maria Pieters. ISBN 978-94-6379-796-2, Acco Publishers, Leuven Belgium, 207–20
- Marchioro S, Del Pozo Sacristán R, Michiels A, Haesebrouck F, Conceição F, Dellagostin O, Maes D (2014) Immune responses of a chimeric protein vaccine containing *Mycoplasma hyopneumoniae* antigens and LTB against experimental *M. hyopneumoniae* infection in pigs. *Vaccine* 32:4689–4694
- Marchioro S, Maes D, Flahou B, Pasmans F, Del Pozo Sacristán R, Vranckx K, Melkebeek V, Cox E, Wuyts N, Haesebrouck F (2013) Local and systemic immune responses in pigs intramuscularly injected with an inactivated *Mycoplasma hyopneumoniae* vaccine. *Vaccine* 31:1305–1311
- Marco E, Yeske P, Pieters M (2020) General control measures against *Mycoplasma hyopneumoniae* infections. In: Book *Mycoplasmas in Swine*. Chapter 9. Editors: Dominiek Maes, Marina Sibila, Maria Pieters. ISBN 978-94-6379-796-2, Acco Publishers, Leuven Belgium, 163–180
- Martelli P, Saleri R, Cavalli V, De Angelis E, Ferrari L, Benetti M, Ferrarini G, Meriardi G, Borghetti P (2014) Systemic and local immune response in pigs intradermally and intramuscularly injected with inactivated *Mycoplasma hyopneumoniae* vaccines. *Vet Microbiol* 168:357–364
- Michiels A, Arsenakis I, Boyen F, Krejci R, Haesebrouck F, Maes D (2017) Efficacy of one dose vaccination against experimental infection with two *Mycoplasma hyopneumoniae* strains. *BMC Vet Res* 13:274
- 1Munyaka P, Blanc F, Estelle J, Lemonnier G, Leplat JJ, Rossignol MN, Jaret D, Plastow G, Billon Y, Willing B, Rogel-Gaillard C (2020) Discovery of Predictors of *Mycoplasma hyopneumoniae* Vaccine Response Efficiency in Pigs: 16S rRNA Gene Fecal Microbiota Analysis. *Microorganisms* 8:1151. doi: 10.3390/microorganisms8081151
- 1Park C, Jeong J, Choi K, Chae C (2016) Efficacy of a new bivalent vaccine of porcine circovirus type 2 and *Mycoplasma hyopneumoniae* (Fosteratm PCV MH) under experimental conditions. *Vaccine* 34:270–272
- 1Pieters M, Maes D (2019) Mycoplasmosis. In J. J. Zimmermann, L. A. Karriker, A. Ramirez, K. J. Schwartz, G. W. Stevenson, & J. Zhang, *Diseases of swine* (11th ed). Hoboken, NJ, USA: John Wiley & Sons, Inc., 863–883. <https://doi.org/10.1002/9781119350927.ch56>
- 1Sibila M, Nofrarias M, Lopez-Soria S, Segalés J, Valero O, Espinal A, Calsamiglia M (2007) Chronological study of *Mycoplasma hyopneumoniae* infection, seroconversion and associated lung lesions in vaccinated and non-vaccinated pigs. *Vet Microbiol* 122:97–107
- 1Summerfield A (2020) Immune responses against porcine *Mycoplasma* infections. In: Book *Mycoplasmas in Swine*. Chapter 6. Editors: Dominiek Maes, Marina Sibila, Maria Pieters. ISBN 978-94-6379-796-2, Acco Publishers, Leuven Belgium, 110–125
- 1Vranckx K, Maes D, Villarreal I, Chiers K, Pasmans F, Haesebrouck F (2012) Vaccination reduces macrophage infiltration in bronchus-associated lymphoid tissue in pigs infected with a highly virulent *Mycoplasma hyopneumoniae* strain. *BMC Vet Res* 8:24



CAPITULO 07



Herramientas de diagnóstico y monitoreo de *Mycoplasma hyopneumoniae*

Fabio Vannucci, DVM, MSc, PhD.

Profesor Asociado. Laboratorio de Diagnósticos Veterinarios, Universidad de Minnesota/E.E.U.U.

María Pieters, DVM, PhD.

Departamento de Medicina Veterinaria de Población & Laboratorio de Medicina Veterinaria Diagnóstica, Universidad de Minnesota/E.E.U.U.

Introducción

El punto de partida para definir la estrategia de diagnóstico y monitoreo de *Mycoplasma hyopneumoniae* se asemeja a la mayoría de las enfermedades infecciosas de los cerdos. El proceso de toma de decisión comienza con la definición de la pregunta a la que se quiere dar respuesta.

- ¿Investigar el aumento de la mortalidad o la morbilidad relacionada con la sintomatología respiratoria?
- ¿Evaluar el nivel de infección activa (excreción de *M. hyopneumoniae*) en la población?
- ¿Monitorear el nivel de exposición (natural o vacunal) en la población?
- ¿Monitorear el éxito de programas de eliminación?

Aunque las herramientas de diagnóstico que se discutirán a continuación pueden definirse como identificación de *M. hyopneumoniae* circulante en la granja, algunas de ellas son más útiles para la definición de casos clínicos en la investigación de brotes de la enfermedad, mientras que otras tienen mayor utilidad como herramienta de seguimiento de la presencia o exposición de la población a la bacteria.

Curso de la infección

A partir de la comprensión de la pregunta que será contestada, es importante comprender el curso de la infección por la toma de decisión en cuanto al tipo de muestra que será recolectada. El siguiente diagrama ilustra la fase aguda de la infección por *M. hyopneumoniae* y las respectivas características de la infección que influyen directamente en la definición del tipo de muestras que deben recogerse para las pruebas de laboratorio. Es importante destacar que la fase crónica ocurre después de aproximadamente 70 días y se caracteriza, principalmente, por excreción intermitente de la bacteria que puede durar hasta 254 días después de la infección.

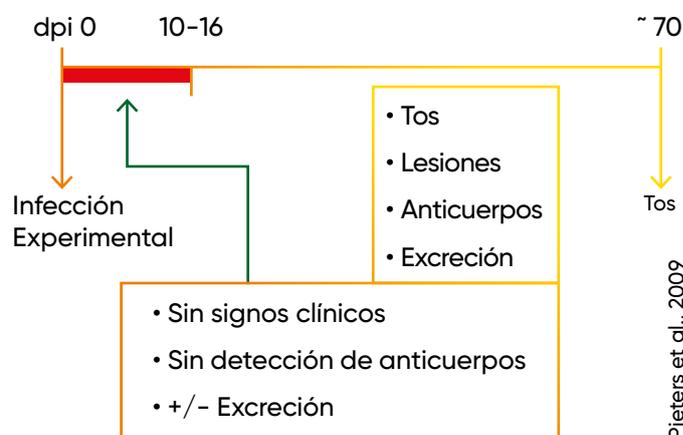
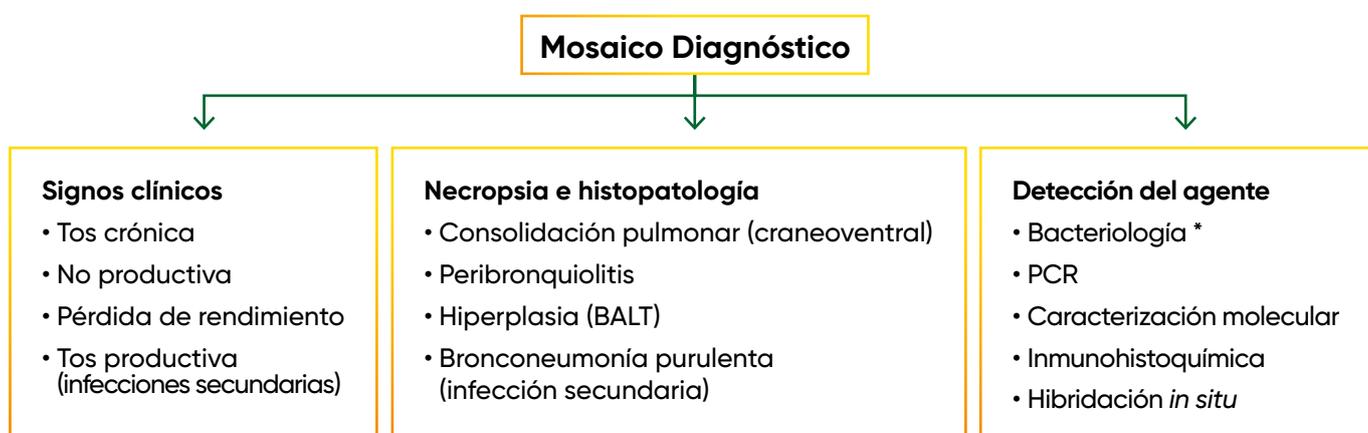


Figura 1. Representación esquemática del curso de la infección por *Mycoplasma hyopneumoniae* con énfasis en las características de la infección importantes para el diagnóstico y el monitoreo. (dpi: días post-infección).

Diagnóstico

Infecciones por *M. hyopneumoniae* no producen lesiones patognomónicas, es decir, específicas de ese patógeno. El diagnóstico clásico de estas infecciones se basa en la interpretación de los hallazgos clínicos, anatomopatológicos y de laboratorio. Estos tres pilares constituyen lo que llamamos el mosaico del diagnóstico. El siguiente diagrama describe las características más específicas de cada uno de estos tres pilares que son importantes para el diagnóstico de la infección por *M. hyopneumoniae*. Aunque el examen bacteriológico (*) que se destaca a continuación se considera el estándar de oro del diagnóstico, este método no es factible para el uso rutinario debido a las características fastidiosas del cultivo y el aislamiento de *M. hyopneumoniae* en el laboratorio.



Los principales signos clínicos respiratorios clásicos de las infecciones por *M. hyopneumoniae* son la tos crónica e improductiva asociada a la pérdida de rendimiento (por ejemplo, el aumento de peso medio diario y la conversión alimenticia). Las infecciones bacterianas oportunistas son frecuentes y, cuando están presentes, suelen dar lugar a episodios de tos productiva debido a la presencia de material mucopurulento en los bronquios y bronquiolos.

Las lesiones macroscópicas observadas en la necropsia se caracterizan principalmente por la consolidación pulmonar con diferentes intensidades de distribución según el curso de la infección. Los lóbulos pulmonares craneo-ventrales suelen ser los más afectados. Sin embargo, también pueden verse afectados otros lóbulos. Las lesiones microscópicas se caracterizan principalmente por la infiltración de linfocitos y células plasmáticas alrededor de los bronquios y bronquiolos, asociada a una eventual exudación de neutrófilos y moco en la luz bronquial y bronquiolar. La

hiperplasia progresiva del tejido linfoide asociado a los bronquios (BALT) es también una característica llamativa, aunque no patognomónica, de la infección por *M. hyopneumoniae*. La presencia de infecciones bacterianas oportunistas da lugar a una mayor intensidad de las lesiones macro y microscópicas asociadas a un componente piógeno con presencia de material mucopurulento.

El tercer pilar representado por la detección del agente está constituido por el examen bacteriológico, un estándar de oro inviable para el diagnóstico de rutina, las técnicas moleculares y la detección de la bacteria en aquellas asociadas a lesiones microscópicas (inmunohistoquímica e hibridación *in situ*). Debido a la agilidad en la obtención de resultados y a la alta sensibilidad, especialmente para la técnica cuantitativa, el método de PCR ha sido el más utilizado para la detección de *M. hyopneumoniae*, tanto en la investigación de brotes como en la vigilancia sanitaria.

Monitoreo

Las dos principales herramientas de monitoreo utilizadas para *M. hyopneumoniae* han sido granja ELISA (detección de IgG) para monitorear granjas negativas y la PCR para monitorear granjas negativas, granjas positivas en programas de eliminación y diagnosticar la prevalencia de animales activamente infectados.

La presencia de resultados falsos positivos por la técnica ELISA se ha descrito como un aspecto que complica la toma de decisiones en las poblaciones negativas. Aunque todavía se utiliza ampliamente, recientemente esta técnica se ha combinado con la PCR laríngea o traqueal en animales sospechosos o positivos por ELISA.

Se han desarrollado y validado diferentes técnicas de PCR para la detección directa de bacterias. Actualmente, se ha utilizado ampliamente la técnica de PCR cuantitativa

o semicuantitativa con la carga bacteriana evaluada según los valores definir. Aunque la técnica de la PCR es sensible y específica, una selección errónea del animal o del tipo de muestra a analizar puede comprometer los resultados de esta prueba de laboratorio. Las muestras de los hisopos bronquiales y de los bronquios son ideales, ya que se recogen específicamente en el lugar de la infección. Sin embargo, este tipo de muestra sólo es viable para el diagnóstico post-mortem.

Para el diagnóstico ante-mortem pueden utilizarse muestras clínicas, incluyendo fluidos orales, hisopos nasales, hisopos amigdalinos, hisopos laríngeos, hisopos traqueo-bronquiales y lavados traqueobronquiales. Existe una variación significativa en la sensibilidad entre estos tipos de muestras, siendo más sensibles las muestras recogidas en las zonas más profundas del tracto respiratorio en comparación con las recogidas en el tracto respiratorio superior.



CAPITULO 08



Aclimatación de cerdas para *Mycoplasma hyopneumoniae*

Karine Ludwig Takeuti, DVM, MSc, PhD.

Investigadora de Post-Doctorado en el Sector de Cerdos de la Facultad de Veterinaria de la Universidad Federal del Rio Grande del Sur (UFRGS) – Brasil.

Una de las principales maneras de transmisión de *Mycoplasma* (*M.*) *hyopneumoniae* ocurre por el contacto directo entre madres infectadas con sus camadas de lechones durante el periodo lactacional, y el orden de nacimiento de la matriz influye directamente en la probabilidad de ser detectada como positiva para *M. hyopneumoniae*. Así, matrices más jóvenes, especialmente cerdas, son aquellas que presentan mayores posibilidades de estar contaminadas al nacimiento (Calsamiglia & Pijoan, 2000). Además, los lechones hijos de estas cerdas tienen 5,4 veces más posibilidades de contaminarse durante el periodo de lactancia y cuanto mayor sea el periodo de contacto con la cerda, es decir, cuanto mayor sea el tiempo de lactancia, mayor será la probabilidad de que se produzca esta transmisión (Wurtz et al., 2016). Aunque los lechones pueden estar contaminados incluso antes del destete, los signos clínicos y las lesiones suelen aparecer en las fases posteriores. Se sabe que la prevalencia de lechones destetados positivos a *M. hyopneumoniae* está directamente relacionada con la mayor aparición y gravedad de las lesiones pulmonares en el momento del sacrificio (Fano et al., 2007), es decir, la falta de control de la infección en las primeras etapas de la vida de los lechones puede ser determinante en su futuro rendimiento sanitario. Así, cualquier granja compuesta por un núcleo de matrices debe priorizar el control de *M. hyopneumoniae* en esta cate-

goría de animales, independientemente si es una granja de ciclo completo o múltiples sitios. Sin embargo, el gran reto en granjas de múltiples sitios es precisamente sensibilizar al médico veterinario/productor del sitio 1 que la falta de control de la infección por *M. hyopneumoniae* en su granja impactará el desempeño de los lechones en las fases subsecuentes. Para disminuir las posibilidades de transmisión de las matrices para sus camadas, la principal manera de control es la aclimatación de cerdas, es decir, la exposición, de manera controlada, de estos animales frente a las variantes que circulan en las granjas en las que están siendo alojadas.

En un primer paso, se debe priorizar la adquisición de cerdas de reemplazo a partir de un origen con status sanitario igual o superior al de la granja que está recibiendo estos animales. Así, en granjas positivas para *M. hyopneumoniae*, la reposición de cerdas ocurre a partir del origen positivo o negativo para el agente. En un primer momento, la adquisición de cerdas negativas puede generar una cierta inseguridad al médico veterinario/productor por la observación de signos clínicos respiratorios en estos animales cuando son expuestos a la granja positiva. Sin embargo, cuanto antes las cerdas empiecen a presentar signos clínicos, mejor, porque significa que se están aclimatando. La infección tardía, por otro lado, es indeseable, ya que aumenta las posibilidades de que las cerdas presenten enfermedad clínica

severa en momentos críticos, como la cubrición y/o gestación, favoreciendo el aumento de la incidencia de regresos al estro y la presencia de matrices positivas para *M. hyopneumoniae* al nacimiento, aumentando las posibilidades de transmisión de la bacteria para sus lechones durante la lactancia. Por estos motivos, la adquisición de cerdas de reposición de origen positivo para *M. hyopneumoniae* fue considerada la mejor opción por muchos años. Sin embargo, con la evolución de las técnicas de biología molecular, diferentes variante de *M. hyopneumoniae* han sido detectadas en una misma granja o también en un único animal (Dos Santos et al., 2015; Takeuti et al., 2017b). Esta información genera una alerta de riesgo, en la adquisición de cerdas de reposición de origen positivo, porque hay la posibilidad de introducción de cerdas portadoras de nuevas variantes en la población que está recibiendo estos animales. Como no hay protección cruzada entre variantes de diferentes grados de patogenicidad (Villarreal et al., 2009) y el número de variantes que circula en una población es directamente proporcional a la incidencia y gravedad de lesiones pulmonares (Michiels et al., 2017), la introducción de cerdas de origen positivo para *M. hyopneumoniae* puede generar un riesgo superior de desestabilización del plantel. También cabe destacar que, independientemente del origen de las cerdas de reposición (positivo/negativo), todas las cerdas deben ser aclimatadas, ya que cerdas de origen positivo no fueron necesariamente expuestas al agente antes de la transferencia para la granja de destino. La ausencia de aclimatación de cerdas de origen positivo puede favorecer la formación de subpoblaciones de cerdas negativas dentro de granjas positivas, haciéndolas susceptibles a la infección en nacimientos subsecuentes (Takeuti et al., 2017a). Por esto, el manejo deberá ser aplicado en cerdas de cualquier tipo de origen

y la introducción de cerdas de origen negativo presenta una gran ventaja en cuanto al control de variantes de *M. hyopneumoniae* que circularán en la granja.

Antes de iniciar el manejo de aclimatación de cerdas para *M. hyopneumoniae*, es importante recordar dos aspectos de la dinámica de infección de este agente: la duración de la infección y la tasa de transmisión de la bacteria. En condiciones experimentales, *M. hyopneumoniae* fue detectado por hasta 214 días pos-infección (Pieters et al., 2009), y en condiciones de campo, se han detectado animales positivos a la PCR hasta cinco meses, siendo más frecuente la detección hasta tres meses (Takeuti et al., 2017a). Esta cronicidad de la infección es determinante para establecer cuando las cerdas deben ser aclimatadas. Ya que el objetivo es que ellas lleguen al nacimiento libres de la infección, este largo periodo de detección debe ser considerado cuando se establece la edad de alojamiento de las cerdas en las granjas. Se sugiere que la edad más adecuada para la recepción de cerdas es 50 días de vida (Pieters & Fano, 2016), considerándose el tiempo necesario para que estos animales se contaminen y que la infección se detenga, garantizando que ninguna cerda llegue al nacimiento positiva. Además de la cronicidad, se debe considerar la baja tasa de transmisión de *M.* En promedio, un animal infectado sólo es capaz de infectar a otro animal susceptible (media $R_n=1,16$; Meyns et al., 2004), es decir, la transmisión de *M. hyopneumoniae* es lenta, lo que dificulta la aclimatación de las cerdas y subraya la necesidad de iniciar el manejo lo antes posible. Además, la dificultad de contaminación impacta en la necesidad de espacio físico adicional en la instalación para alojar tanto cerdas infectantes («seeders»), como las cerdas susceptibles («nāive»)/que serán aclimatadas.

La vacunación de cerdas contra *M. hyop-*

neumoniae es una buena estrategia para ser utilizada en el alojamiento en la granja de destino, ya que la vacunación garantiza una mayor proporción de cerdas seropositivos hasta el parto y de lechones positivos al destete, además de reducir la prevalencia de cerdas positivas para *M. hyopneumoniae* por PCR (Garza-Moreno et al., 2019). Por otro lado, el uso de antimicrobianos con acción frente a *M. hyopneumoniae*, principalmente de aquellos que alcanzan alta concentración pulmonar, puede dificultar la aclimatación de las cerdas. Ya el uso de penicilinas y cefalosporinas puede ser una buena estrategia durante el periodo de aclimatación por tener acción solamente a agentes secundarios que están frecuentemente asociados a la infección por *M. hyopneumoniae* y que, generalmente, son los responsables por la mortalidad de los animales.

Hay cuatro maneras principales de aclimatación de cerdas para *M. hyopneumoniae*: a) Contacto directo entre animales positivos para *M. hyopneumoniae* (confirmados por PCR) y animales susceptibles; b) Contacto directo entre animales con signos clínicos respiratorios que sugieren neumonía enzoótica y animales susceptibles; c) Exposición con la utilización de inóculo positivo para *M. hyopneumoniae* vía aerosol; d) Exposición con utilización de inóculo positivo para *M. hyopneumoniae* vía intratraqueal. Cada método tiene ventajas y desventajas (Tabla 1), que serán abordadas considerándose la realidad actual, en la que hay gran limitación física en las granjas para el alojamiento de cerdas, aún jóvenes, por un largo periodo y de las cerdas utilizadas como seeders,

además de la dificultad de acceso a laboratorios para fines de diagnóstico o producción de inóculo, especialmente en granjas independientes o integradas a empresas que no tengan soporte de laboratorio interno. Como cada granja tiene un tipo de flujo de reposición de cerdas, tiene estructura física específica, y tiene sus limitaciones en términos de fondos disponibles para invertir en la aclimatación de cerdas, es responsabilidad de la empresa/veterinario responsable/productor decidir el tipo de manejo que es viable para ser utilizado.

En resumen, comprender que la cerda de reemplazo desempeña un papel importante en la dinámica de infección de *M. hyopneumoniae* es fundamental que esta categoría de animales reciba la atención necesaria en la fase inicial de su vida reproductiva para un mejor control de la enfermedad clínica de los lechones en las fases de crecimiento y terminación. La exposición precoz de cerdas frente a las variantes de *M. hyopneumoniae* que circulan en las granjas de destino, cuando se realiza de forma adecuada, reducirá de manera efectiva la probabilidad de que las matrices lleguen al nacimiento positivas e infecten sus lechones durante el periodo de lactancia haciendo que la granja sea más estable al agente. Sin embargo, el manejo implicado en la aclimatación de cerdas para *M. hyopneumoniae* es laborioso y necesita el compromiso y dedicación de los médicos veterinarios y empleados. Aunque varios retos para la ejecución de este manejo se encuentren en las granjas, con una buena planificación se puede alcanzar el éxito.

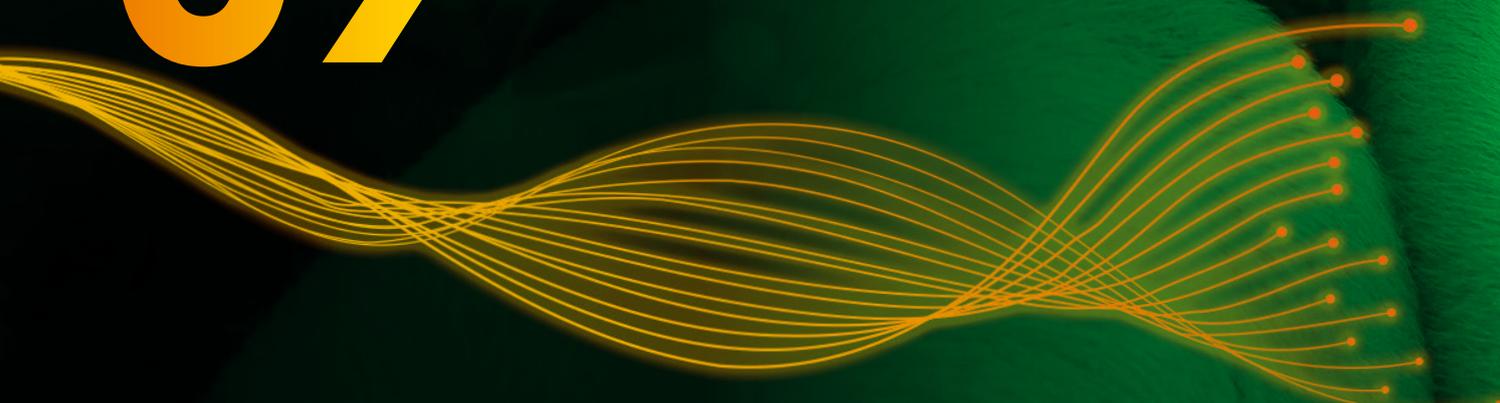
Referencias

- Calsamiglia, M. & Pijoan, C. Colonisation state and colostral immunity to *Mycoplasma hyopneumoniae* of different parity sows. *Veterinary Record*, v.146, p.530-532, 2000.
- Dos Santos, L.F.; Sreevatsan, S.; Torremorell, M.; Moreira, M.A.S.; Sibila, M. & Pieters, M. Genotype distribution of *Mycoplasma hyopneumoniae* in swine herds from different geographical regions. *Veterinary Microbiology*, v.175, p.374-381, 2015.
- Fano, E.; Pijoan, C.; Dee, S. & Deen, J. Effect of *Mycoplasma hyopneumoniae* colonization at weaning on disease severity in growing pigs. *Canadian Journal of Veterinary Research*, v.71, p.195-200, 2007.
- Garza-Moreno, L.; Pieters, M.; López-Soria, S.; Carmona, M.; Krejci, R.; Segalés, J. & Sibila, M. Comparison of vaccination protocols against *Mycoplasma hyopneumoniae* during the gilt acclimation period. *Veterinary Microbiology*, v.229, p.7-13, 2019.
- Meyns, T.; Maes, D.; Dewulf, J.; Vicca, J.; Haesebrouck, F. & De Kruif, A. Quantification of the spread of *Mycoplasma hyopneumoniae* in nursery pigs using transmission experiments. *Preventive Veterinary Medicine*, v.66, p.264-275, 2004.
- Michiels, A.; Vranckx, K.; Piepers, S.; Sacristán, R.D.P.; Arsenakis, I.; Boyen, F.; Haesebrouck, F. & Maes, D. Impact of diversity of *Mycoplasma hyopneumoniae* strains on lung lesions in slaughter pigs. *Veterinary Research*, v.48, p.1-14, 2017.
- Pieters, M.; Pijoan, C.; Fano, E. & Dee, S. An assessment of the duration of *Mycoplasma hyopneumoniae* infection in an experimentally infected population in pigs. *Veterinary Microbiology*, v.134, p.261-266, 2009.
- Pieters, M. & Fano, E. *Mycoplasma hyopneumoniae* management in gilts. *Veterinary Record*, v.178, p.122-123, 2016.
- Takeuti, K.L.; Barcellos, D.E.S.N.; Lara, A.C.; Kunrath, C.F. & Pieters, M. Detection of *Mycoplasma hyopneumoniae* in naturally infected gilts over time. *Veterinary Microbiology*, v.203, p.215-220, 2017a.
- Takeuti, K.L.; Barcellos, D.E.S.N.; Andrade, C.P.; Almeida, L.L. & Pieters, M. Infection dynamics and genetic variability of *Mycoplasma hyopneumoniae* in self-replacement gilts. *Veterinary Microbiology*, v.208, p.18-24, 2017b.
- Villarreal, I.; Maes, D.; Meyns, T.; Gebruers, F.; Calus, D.; Pasmans, F. & Haesebrouck, F. Infection with a low virulent *Mycoplasma hyopneumoniae* isolate does not protect piglets against subsequent infection with a highly virulent *M. hyopneumoniae* isolate. *Vaccine*, v.27, p.1875-9, 2009.
- Wurtz, T.; Greiner, L.; Waddell, J.; Fano, E. & Edler, R. Determining the prevalence of *Mycoplasma hyopneumoniae* colonization of weaned piglets from gilt litters. In: *Proceedings of the AASV*, p.249, 2016.

Tipo de Aclimatación	Ventajas	Desventajas
Contacto directo con animales positivos (PCR)	Baja incidencia de fallos en la aclimatación	<p>Dificultad en la identificación de la cantidad necesaria de seeders</p> <p>Necesidad de espacio físico más amplio (alojamiento de seeders)</p> <p>Necesidad de galpón con tabiques huecos entre ellos</p> <p>Costo y soporte de laboratorio (diagnóstico)</p>
Contacto directo con animales con signos clínicos respiratorios	No es necesario el soporte de laboratorio.	<p>Dificultad en la identificación de la cantidad necesaria de seeders</p> <p>Necesidad de espacio físico más amplio (alojamiento de seeders)</p> <p>Necesidad de galpón con tabiques huecos entre ellos</p> <p>Alta incidencia de fallos de aclimatación</p>
Exposición por nebulización	<p>Baja incidencia de fallos en la aclimatación</p> <p>Necesidad de espacio físico más pequeño (no hay seeders)</p> <p>Alojamiento de cerdas más jóvenes</p> <p>Rápida exposición</p>	<p>Riesgo operativo (necesario a la producción de inóculo libre de Influenza)</p> <p>Necesidad de soporte de laboratorio fácil y rápido</p> <p>Costo y soporte de laboratorio (diagnóstico e inóculo)</p>
Exposición intratraqueal	<p>Baja incidencia de fallos en la aclimatación</p> <p>Necesidad de espacio físico más pequeño (no hay seeders)</p> <p>Alojamiento de cerdas más jóvenes</p>	<p>Necesidad de soporte de laboratorio fácil y rápido</p> <p>Laborioso</p> <p>Costo y soporte de laboratorio (diagnóstico e inóculo)</p>



CAPITULO 09



Programas de erradicación de *Mycoplasma hyopneumoniae*

Fabio Vannucci, DVM, MSc, PhD.

Profesor Asociado. Laboratorio de Diagnósticos Veterinarios, Universidad de Minnesota/E.E.U.U.

María Pieters, DVM, PhD.

Departamento de Medicina Veterinaria de Población & Laboratorio de Medicina Veterinaria Diagnóstica, Universidad de Minnesota/E.E.U.U.

Introducción

Síndromes respiratorios causados por infecciones por *Mycoplasma hyopneumoniae* están entre las más frecuentes y con un importante y significativo impacto económico para la porcicultura mundial. Esta característica asociada a la cronicidad de la infección trae retos únicos para el control y erradicación de este agente.

Los métodos más comúnmente utilizados en el control de la infección han sido terapia con antimicrobianos, vacunación, manejo todo dentro todo fuera (*all-in all-out*), destete precoz, segregación de matrices por partos, entre otros. Aunque estos métodos traigan beneficios importantes, sobre todo por la disminución de la carga bacteriana y presión de infección en una determinada granja o sistema integrado de producción, ellos no garantizan la eliminación del agente para evitar nuevos casos o brotes cuando animales negativos son introducidos en la granja. En el siguiente capítulo, se describirán un resumen de los principales programas

de eliminación actualmente utilizados para *Mycoplasma hyopneumoniae*. Después, se presentará una tabla comparativa de los protocolos presentados a continuación.

Programas de eliminación

Programas de eliminación de *M. hyopneumoniae* son implementados en dos principales escenarios:

- Protocolos de controles que no alcanzan el éxito esperado.
- Granjas o sistemas con valor genético agregado donde se desea ofrecer animales negativos para granjas comerciales.

Hay cuatro principales protocolos de erradicación más comúnmente descritos: Despoblación y repoblación, Despoblación parcial, Cierre de granja asociado con medicación y Medicación en masa sin el cierre de la granja. Los dos últimos ejemplos serán abordados con más énfasis, porque, actualmente, son utilizados con mayor frecuencia.

1. Despoblación y repoblación

Como el propio nombre sugiere, este tipo de programa de erradicación se refiere a la remoción de todos los animales de la granja y sustitución por una población de animales libres de *M. hyopneumoniae*. Una de las principales ventajas de este programa es la posibilidad de eliminar más de un patógeno. Por ejemplo, en granjas positivas para *M. hyopneumoniae* y que tienen brotes recurrentes de pleuroneumonía porcina causada por el *Actinobacillus pleuropneumoniae* o diarreas causadas por *Brachyspira hyodysenteriae*. En un escenario como este, la despoblación con repoblación utilizando animales con alto estándar sanitario puede ser deseable.

Los principales puntos negativos de este programa de eliminación son caracterizados por la completa interrupción y pérdida productiva hasta que el nuevo plantel reproductivo empiece a producir lechones o cochinitillos libres de infección. Además, la remoción de toda la población puede no ser deseable en sistemas con animales de alto valor genético (ej. Granjas núcleos o multiplicadoras de lechones).

2. Despoblación parcial

El programa de despoblación parcial también es conocido como método suizo por ganar reconocimiento mundial en la década de 1990 cuando Suiza implementó el programa nacional de erradicación de *M. hyopneumoniae* y *A. pleuropneumoniae*. Ese método de erradicación incluye los siguientes ítems:

- I. Remoción de todos los animales de la población con menos de 10 meses de edad.
- II. Interrupción de todos los partos por lo menos 2 semanas.
- III. Medicación masiva de los animales que no están en el periodo de parto.

3. Cierre de granja asociado a medicación masiva

El programa de erradicación que implica el cierre de la granja a la entrada de animales asociado a la medicación masiva se caracteriza por una adaptación del método suizo. Con el objetivo de minimizar las pérdidas de producción, esta adaptación permite la medicación masiva sin interrumpir el parto. Hay 4 principios básicos para este programa de erradicación:

- I. Exposición de todos los animales, incluyendo el lechón a *M. hyopneumoniae*.
- II. Cierre de la granja a la entrada de nuevos animales por lo menos durante 8 meses.
- III. Vacunación de toda la población.
- IV. Medicación masiva de todos los animales antes de la introducción de lechones libres de *M. hyopneumoniae*.

La exposición de todos los lechones presentes en la granja a *M. hyopneumoniae* en el inicio del programa es muy importante. La interrupción de la entrada de animales en la granja por lo menos durante 8 meses se basa en infecciones experimentales que indican que animales infectados pueden excretar de forma intermitente *M. hyopneumoniae* por hasta 200 días después de la infección. La vacunación de toda la granja antes de la introducción de animales negativos tiene como principal objetivo aumentar la inmunidad de la población ya expuesta ya expuesto en el inicio del programa de eliminación. Finalmente, todos los animales son entonces medicados con fármacos con eficacia comprobada para *M. hyopneumoniae*. A continuación el listado de actividades semanales que serán realizadas durante este programa de eliminación.

Semana 1

- Adquirir lechones para introducción en un galpón aislado dentro del sistema o en un galpón de desarrollo de lechones (Gilt Development Unit, GDU).
- Importante tener en cuenta la necesidad de tener cantidad suficiente de lechones para el cierre de la granja por al menos 240 días.
- Los lechones deben ser de diferentes edades, los más jóvenes con 2 meses.
- Vacunación de lechones (primera dosis)
- Si los lechones están negativos para *M. hyopneumoniae*, la exposición puede ser realizada por contacto directo con lechones recientemente infectados.

Semana 3

- Vacunación de lechones (segunda dosis)

Semana 4

- Inicio de introducción de lechones en la granja
- Flujo de introducción que puede ser por grupos (ej.: siguiendo la logística semanal de cobertura)

Semana 6

- Vacunación en masa de todos los animales del ganado reproductivo

Semana 19

- Vacunación en masa de todos los animales del núcleo reproductivo

Semana 27-31

- Introducción de animales libres de *M. hyopneumoniae* en galpón aislado o GDU que fue previamente vaciado de lechones positivos y debidamente limpiado y desinfectado.
- A partir del momento en el que todos los lechones estén aislados en la granja.

Semana 28

- Vacunación en masa de todos los animales del núcleo reproductivo

Semana 31

- Vacunación en masa de todos los animales del núcleo reproductivo

Semana 32

- Vacunación en masa de todos los animales del núcleo reproductivo

Semana 33

- Limpieza y desinfección de los galpones de inseminación y gestación

Semana 33-34

- Inicio de la medicación en el núcleo reproductivo por alimento o agua por 2 a 4 semanas.
- Inicio de la medicación inyectable de lechones en el nacimiento (con una dosis adicional dependiendo del antimicrobiano)

Semana 35

- Inicio de introducción de animales de reproducción negativos en la granja

Semana 36-37

- Conclusión de la medicación en el núcleo reproductivo

Semana 37-41

- Conclusión de la medicación en los lechones

Semana 38-42

- Inicio de pruebas de diagnóstico para monitoreo del éxito del programa de eliminación
-

4. Medicación masiva sin el cierre de la granja

El programa de medicación masiva sin el cierre de la granja es el más reciente para la eliminación de *M. hyopneumoniae*. Esta estrategia implica la medicación de toda la población de la granja (lechones/madres, cerdas, lechones y cebs) utilizando antimicrobianos de acción prolongada, generalmente inyectables, que tienen una eficacia comprobada para el control de *M. hyopneumoniae*. Este programa sigue las siguientes etapas de implementación:

- Día 1: Primera dosis de tratamiento inyectable con fármacos de larga acción en todos los animales
- Día 15: Segunda dosis de tratamiento inyectable con fármacos de larga acción en todos los animales.

- Lechones nacidos 4 semanas después de la primera dosis de medicación masiva son medicados al nacimiento y a los 14 días de vida.

En este tipo de programa de eliminación, el flujo de introducción de nuevos animales en la granja no es modificado, teniendo en cuenta que los animales que serán introducidos en la granja son libres de la infección. Cuando este programa resulta con éxito, la ventaja más importante es el regreso más rápido al estado de granja negativa. Sin embargo, esta estrategia de eliminación ha sido menos exitosa cuando se compara con el programa de eliminación a través del cierre de la granja asociado a la medicación masiva (Tabla 1).

Tabla 1. Tabla comparativa de los principales aspectos relacionados con los cuatro programas de erradicación descritos anteriormente.

Programa de eliminación	Pérdidas productivas	Vacunación masiva	Medicación en matrices y lechones		Medicación en lechones	Introducción de animales	Potencial para eliminación
			Pienso o agua	Inyectable			
Despoblación/Repoblación	X					Después de despoblación	X
Despoblación parcial	X		X			Después de despoblación	
Cierre de granja con medicación masiva	X	X	X	X	X	Interrupción durante el programa	X
Medicación masiva sin cierre de la granja				X	X	Continua durante el programa	X

Referencia

Holst, S., Yeske, P., & Pieters, M. (2015). Elimination of *Mycoplasma hyopneumoniae* from breed-to-wean farms: A review of current protocols with emphasis on herd closure and medication. *Journal of Swine Health and Production*, 23(6), 321-330.

