

## Como certificar granjas libres de *Mycoplasma hyopneumoniae*

**Autor:** Maria Pieters, DVM, PhD Departamento de Medicina Poblacional Veterinaria, Facultad de Medicina Veterinaria, Universidad de Minnesota

**Fuente:** Memorias del XII Congreso Nacional de Producción Porcina | Mar del Plata | Argentina | 2014

### Introducción

La erradicación de enfermedades en granjas de cerdos es una tendencia sanitaria que se ha ido popularizando en los últimos años. Cada vez son más los hatos porcinos libres de ciertos patógenos importantes, como el virus del Síndrome Reproductivo y Respiratorio Porcino o *Mycoplasma hyopneumoniae* (*M. hyopneumoniae*). Uno de los aspectos más significativos de un exitoso programa de erradicación es garantizar que el proceso se haya completado y poder demostrar que el agente ya no se encuentra circulando en la población. En el caso de ciertos patógenos, este aspecto está bastante bien caracterizado y las herramientas de diagnóstico han sido desarrolladas, para otros patógenos, como *M. hyopneumoniae*, el proceso es una tarea más difícil, dejando lugar a dudas con respecto a la completa erradicación del agente. En este resumen se exponen los principales componentes de los protocolos para determinar que *M. hyopneumoniae* no esté circulando en un hato porcino.

### Se puede “certificar” una granja como libre de *M. hyopneumoniae*?

Idealmente y probablemente en el sentido teórico estricto, la erradicación de patógenos es certificable. Sin embargo, existen situaciones como en el caso de *M. hyopneumoniae*, en las que poner el sello de “certificado” después de un programa de erradicación resulta difícil de llevar a cabo. Frecuentemente se pueden ver publicaciones y resúmenes de procesos de erradicación, en los que los autores reportan la exitosa eliminación de *M. hyopneumoniae*. Sin embargo, no existe un protocolo universal para estos fines, sino que se utilizan diferentes formas para evaluar la erradicación.

El aspecto crítico para tener una mejor certeza del éxito de un programa de erradicación para *M. hyopneumoniae* radica en conocer los puntos básicos de la patogénesis y respuesta inmune a esta bacteria, para así hacer una interpretación adecuada de los resultados de laboratorio y signos clínicos o lesiones en los animales del rebaño en el que se aplicó el programa de erradicación. A continuación se explican varios aspectos utilizados como indicadores de falta de enfermedad o eliminación del patógeno.

### **Ausencia de signos clínicos**

Muchas veces la ausencia de la tos seca característica de las infecciones por *M. hyopneumoniae* en cerdos es utilizada como un marcador de ausencia del patógeno. Quizá en otros escenarios, y refiriéndose a otros agentes causantes de enfermedad este sea un buen indicador, pero se debe recordar que varios aspectos hacen de esta medida una muy mala forma de evaluar un proceso de erradicación. Primero que nada, la tos seca evidenciada en infecciones por *Mycoplasma* no es patognomónica, por lo cual en casos de tos, otros agentes diferentes a *M. hyopneumoniae* podrían estar involucrados. Pero más importante es el hecho que la falta de tos no siempre representa ausencia de enfermedad. El periodo de incubación de *M. hyopneumoniae* es significativamente largo, una vez que un cerdo ha sido infectado con esta bacteria, puede tomar alrededor de 15 días o más para que el signo clínico de la tos seca sea evidente (Thacker y Minion, 2012). Otro aspecto importante de resaltar es que la tos se evidencia solo durante la fase aguda de la enfermedad, es decir, este signo clínico desaparece alrededor de 60 días después de su iniciación (Pieters et al., 2009), aunque los animales permanezcan infectados por un tiempo mucho más largo, con el agravante que durante ese tiempo silente de signos los cerdos siguen excretando la bacteria y representan una fuente de infección para otros animales en el rebaño. Así, por todo lo antes expuesto, la ausencia de signos clínicos sugerentes de infección con *M. hyopneumoniae* no debe utilizarse como único indicador erradicación.

## Ausencia de lesiones pulmonares en el frigorífico

Históricamente, la evaluación de lesiones pulmonares en plantas de procesamiento de cerdos ha constituido una de las prácticas más frecuentes para evidenciar la presencia del daño causado por *M. hyopneumoniae* (Pointon et al., 1999). Sin embargo, varios aspectos se deben tener en cuenta para interpretar los datos obtenidos después de una inspección de lesiones pulmonares:

1. Las lesiones pueden deberse a diferentes agentes causales y no solamente *M. hyopneumoniae*, por lo que confirmación con pruebas diagnosticas es necesaria.
2. Las lesiones pueden sanar e incluso desaparecer en el transcurso de la fase crónica de la enfermedad aunque los animales permanezcan infectados e infecciosos.
3. La evaluación de solo un cierto número de pulmones puede dejar escapar fácilmente algunos pocos pulmones afectados en el grupo.

## Diagnostico por pruebas de laboratorio

- Cultivo bacteriológico: Generalmente esta prueba no es utilizada en el diagnostico rutinario de *M. hyopneumoniae* ya que es un proceso con muchas limitaciones, entes las cuales se incluyen: baja sensibilidad, largo tiempo para obtener resultados, frecuente contaminación de la muestra con otros Mycoplasmas de cerdos, como *M. hyorhinitis*, y el uso de un medio de cultivo altamente específico con alto costo de producción (Thacker y Minion, 2012). Resultados que indican no crecimiento de la bacteria en el medio solo podrían ser interpretados como ausencia de cultivo, pero en ningún caso como negatividad al agente patógeno, por tanto esta prueba no se incluye en protocolos de detección.
- Detección de anticuerpos: En el mercado existen varias presentaciones comerciales de kits para la detección de anticuerpos contra *M. hyopneumoniae* a través de métodos de ELISA. La diferencia básica entre algunos kit radica en el tipo de antígeno que se utiliza, por ejemplo, el uso de

bacteria completa o proteínas específicas. También la metodología utilizada para la detección puede ser diferente, pero a pesar de las diferencias entre los kits comerciales, los resultados obtenidos al practicar un ELISA suelen ser similares cuando se comparan estadísticamente. La seroconversión frente a la infección por *M. hyopneumoniae* suele ser muy lenta y en la mayoría de los casos los animales pueden estar excretando agentes infecciosos mucho tiempo antes de ser identificados como positivos a ELISA. Y en el caso contrario, los animales pueden ser seronegativos después de mucho tiempo de la primera exposición al agente (durante la fase crónica de la enfermedad), aunque aun sigan excretando *M. hyopneumoniae*, que es infeccioso para otros cerdos (Pieters et al., 2009).

Otro aspecto importante de la prueba de ELISA para *M. hyopneumoniae* es que no se puede diferenciar entre anticuerpos generados ante la exposición por vacuna o por infección.

- Detección de material genético: Sin lugar a dudas, la detección de material genético de *M. hyopneumoniae* a través de PCR especie específico constituye la prueba de laboratorio más sensible para la identificación de este patógeno en tejidos de cerdo. También se ha desarrollado una prueba isotérmica de amplificación para *M. hyopneumoniae* conocida como LAMP (por sus siglas en Inglés: LoopmediatedisothermalAMPLification; Rovira et al., 2008), la cual se puede poner en marcha en laboratorios donde el costo del equipo para pruebas de PCR es muy elevado.

Aunque la sensibilidad de la prueba varía de acuerdo al tipo de muestra que se utiliza. En líneas generales, los PCR de tiempo real (Strait et al., 2008) de hisopos bronquiales son considerados el mejor tipo de muestra para confirmar la presencia del patógeno. Los hisopos nasales resultan mucho menos sensibles a la hora de identificar animales positivos, pero son realmente prácticos, sobre todo comparados con los hisopos bronquiales, que solo pueden ser colectados en animales después del sacrificio. Más recientemente se han probado diferentes tipos de muestras, como hisopados laríngeos, o lavados traqueo bronquiales *in vivo*, y sus resultados para la detección de *M.*

*hyopneumoniae* resultan más sensibles que los hisopos nasales. Otro tipo de muestra que se ha popularizado durante los últimos años son los fluidos orales colectados con cuerdas de algodón. Mientras estas muestras son muy convenientes a la hora de la colección y no representan ningún tipo de invasión en el animal, los resultados para la detección de *M. hyopneumoniae* no son muy sensibles, sobre todo durante la fase inicial del proceso infeccioso, por ello este tipo de muestra combinado con el PCR no se debería utilizar en el caso que se quiera hacer un monitoreo de poblaciones potencialmente negativas.

### **Introducción de cerdos centinelas**

Probablemente la introducción de cerdos centinelas sea la herramienta más sensible para la detección de animales positivos a *M. hyopneumoniae* en rebaños con una prevalencia muy baja o negativos. Esta técnica se basa en hacer que cerdos negativos estén en contacto con los animales sospechosos por un periodo de al menos 4 semanas. Luego la aparición de signos clínicos, seroconversión o la detección misma de *M. hyopneumoniae* se observará en los animales centinelas.

En resumen, resulta bastante difícil identificar el protocolo perfecto para la certificación de erradicación de *M. hyopneumoniae* en un hato porcino, sin embargo un claro entendimiento de las metodologías existentes, tomando en cuenta sus limitaciones, ventajas y desventajas constituya la mejor herramienta para hacer la mejor interpretación de los resultados de estas técnicas. Ultimadamente, después de la aplicación de protocolos de erradicación siempre existe la duda si la bacteria ha sido totalmente erradicada o si solo se encuentra a un nivel de prevalencia lo suficientemente bajo como para no ser detectado por los protocolos más comunes. En muchos casos, las reinfecciones que ocurren después de un año de la erradicación siempre levantan una sospecha de la verdadera eficacia del proceso de eliminación. Sin embargo, las infecciones laterales por *M. hyopneumoniae* se han documentado en el pasado (Goodwin et al., 1985), y hoy día se conoce que esta bacteria puede viajar grandes distancias

(Cardona et al., 2003, Otake et al., 2010) con el potencial para infectar animales susceptibles.

Como último punto es necesario hacer énfasis en el hecho que la falta de un protocolo para asegurar que la erradicación haya ocurrido no debe ser una razón que desvíe la intención de un programa de erradicación de *M. hyopneumoniae*. Bien es sabido que aunque no se mantenga a través de muchos años, un programa de erradicación de este agente retribuye su costo en las mejoras de producción (Haden et al., 2012) y esto inclusive puede obtenerse en un poco menos de un año después de haber concluido (Yeske, P., 2014).

## Referencias

Cardona, A.C., Pijoan, C., Dee, S.A. 2005. Assessing *Mycoplasma hyopneumoniae* aerosol movement at several distances. *Vet Rec.* 156:91-92.

Goodwin, R.F. 1985. Apparent reinfection of enzootic-pneumonia-free pig herds: search for possible causes. *Vet Rec.* 116:690-694.

Haden, C., Painter, T., Fangman, T., Holtkamp, D. (2012). Assessing production parameters and economic impact of swine influenza, PRRS and *Mycoplasma hyopneumoniae* on finishing pigs in a large production system. *Proceedings of the American Association of Swine Veterinarians Annual Meeting.* Denver, CO, USA.

Otake S, Dee S, Corzo C, Oliveira S, Deen J. 2010. Long-distance airborne transport of infectious PRRSV and *Mycoplasma hyopneumoniae* from a swine population infected with multiple viral variants. *Vet Microbiol.* Oct 26;145(3-4):198-208.