



**Universidad Nacional Autónoma de  
México  
Facultad de Estudios Superiores  
Cuautitlán**

**EVALUACIÓN DEL EFECTO DEL  $\beta$ -GLUCANO DE  
*SACCHAROMYCES CEREVISIAE* EN LECHONES DESAFIADOS CON  
*MYCOPLASMA HYOPNEUMONIAE***

**TESIS**

**PARA OBTENER EL TÍTULO DE:  
LICENCIADO EN BIOQUÍMICA DIAGNÓSTICA**

**SUSTENTANTE:  
LUIS EDUARDO SUÁREZ VÉLEZ**

**DIRECTORA DE TESIS:  
DR. SUSANA E. MENDOZA ELVIRA**



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.



UNIVERSIDAD NACIONAL  
AUTÓNOMA DE  
MÉXICO

**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN**  
**SECRETARÍA GENERAL**  
**DEPARTAMENTO DE EXÁMENES PROFESIONALES**

U.N.A.M.  
FACULTAD DE ESTUDIOS  
SUPERIORES CUAUTITLÁN

**ASUNTO: VOTO APROBATORIO**



**M. en C. JORGE ALFREDO CUÉLLAR ORDAZ**  
**DIRECTOR DE LA FES CUAUTITLÁN**  
**PRESENTE**

**ATN: I.A. LAURA MARGARITA CORTAZAR FIGUEROA**  
**Jefa del Departamento de Exámenes Profesionales**  
**de la FES Cuautitlán.**

Con base en el Reglamento General de Exámenes, y la Dirección de la Facultad, nos permitimos comunicar a usted que revisamos el: Trabajo de Tesis

**Evaluación del efecto del  $\beta$ -Glucano de *Saccharomyces cerevisiae* en lechones desafiados con *Mycoplasma Hyopneumoniae*.**

Que presenta el pasante: **Luis Eduardo Suárez Vélez**

Con número de cuenta: **313341971** para obtener el Título de la carrera: **Licenciatura en Bioquímica Diagnóstica**

Considerando que dicho trabajo reúne los requisitos necesarios para ser discutido en el **EXAMEN PROFESIONAL** correspondiente, otorgamos nuestro **VOTO APROBATORIO**.

**ATENTAMENTE**

**"POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU"**

Cuautitlán Izcalli, Méx. a 29 de Noviembre de 2019.

**PROFESORES QUE INTEGRAN EL JURADO**

	NOMBRE	FIRMA
<b>PRESIDENTE</b>	Dra. Susana Elisa Mendoza Elvira	
<b>VOCAL</b>	M.V.Z. Angel Germán Martínez Sosa	
<b>SECRETARIO</b>	M. en C. Alberto Natahliel Soto Guevara	
<b>1er. SUPLENTE</b>	M. en C. Raquel María del Refugio Tapia Romero	
<b>2do. SUPLENTE</b>	LBD. Josué Yasar Guerrero Morales	

NOTA: los sinodales suplentes están obligados a presentarse el día y hora del Examen Profesional (art. 127).

## **Agradecimientos**

A la doctora Susana Mendoza Elvira. Le agradezco por todo el apoyo que me otorgó durante el desarrollo de este proyecto, gracias por haber confiado en mí desde el primer día, sin siquiera haberme conocido me dio la oportunidad de trabajar a su lado. Aprendí demasiado bajo su tutoría, tanto académicas como personales, me inculcó el cariño hacia los cerditos y la ambición por conocer tantos lugares en el mundo como lo ha hecho usted. Se que en esta etapa como profesionalista siempre podré contar con usted. Gracias por enseñarme a valorar todos mis esfuerzos y motivarme a conocer tantos lugares como lo ha hecho.

Al Dr. Abel Ciprian Carrasco agradezco el apoyo que me dio para facilitar la comprensión de diversos métodos utilizados dentro de la experimentación al igual que la disposición para la solución de mis dudas.

A la Dra. Gabriela Bárcenas Morales le agradezco por el préstamo de equipos y el apoyo otorgado durante el desarrollo de la experimentación y determinación de citocinas.

Le agradezco al Dr. Serafín Solorio por la donación de cerdos utilizados dentro de la experimentación.

Gracias al Dr. Luis Felipe Islas Guerra por la donación de reactivos utilizados dentro de la experimentación

A mis padres por apoyarme durante todas mis etapas dentro de mi vida académica; por el apoyo económico y el esfuerzo tan grande que realizaron y siguen realizando por mí. Los amo

A mis abuelos, los que están Olga Amalia Barquera Rodríguez, Maximiliano Vélez y los que partieron con grandes enseñanzas Rodolfo Martínez Robles y Graciela Galván Correa por haber sido durante toda mi vida mi alegría y mi base de recuerdos bonitos en toda mi vida, cada uno me dio aprendizajes distintos, sin embargo, gracias a ustedes soy lo que soy. Los amo infinitamente

A mis amigos de toda la vida Juan Antonio Tellez, Eric Núñez, Alfonso Cárdenas y Viridiana Escalante por acompañarme en todo momento en mis mejores y peores momentos, ustedes saben que importante es este logro para mí, muchas gracias por siempre estar para mí. Los quiero mucho

A mis hermanos que no son mis hermanos Guillermo Pérez, Carlos Pérez y Gabriel Pérez por estar conmigo e incluirme como uno más de la familia cuando no tenía nadie a mi lado, ustedes me dieron la oportunidad de saber que es tener un hermanito.

Especialmente agradezco a Guillermo Pérez por permitirme vivir tantas experiencias a tu lado, gracias por tu apoyo ingeniero, sin aún comprender nada relacionado con la carrera tenías tiempo para escuchar mis logros y fracasos relacionados con ella. Los amo mucho, hermanos.

Finalmente, y más importante quiero agradecer a Ana Lilia Martínez González por todo el apoyo y amor incondicional que me ha dado desde que nos conocimos, gracias a ti es que estoy escribiendo estas palabras, porque solo tu comprendiste y me apoyaste en tan difícil etapa en mi vida; nadie más que tu sabe que no se me dan muy bien las palabras, sin embargo, quiero terminar con un "Te amo mi cielo".

### **Patrocinadores:**

Nuestro profundo agradecimiento a los patrocinadores para llevar a cabo este proyecto de investigación.

FESC/UANM por recibir una formación la cual me dará la capacidad de desarrollarme como profesional de la salud, siempre poniendo en alto el nombre y la calidad de nuestra institución.

Dr. Serafín Solorio de Phileo by Lesaffre, el donativo de cerdos, alimento, kit's. Utilizados.

Dr. Luis Felipe Islas Guerra de Pecuarios.com, por la donación de algunos reactivos utilizados.

Centro Nacional de Servicios de Diagnóstico en Salud Animal (CENASA), por las unidades de aislamiento para mantener a los grupos experimentales de cerdos. Programa de Apoyo a Proyectos de Investigación e Innovación Tecnológica (PAPIIT), PAPIIT IN228516.

Programa Interno de Apoyo para Proyectos de Investigación (PIAPI), PIAPI1827

## Índice

Resumen.....	6
Introducción.....	7
Marco Teórico.....	10
Primeros descubrimientos.....	10
Primer Aislamiento.....	10
Características de <i>Mycoplasma hyopneumoniae</i> .....	10
Epidemiología.....	11
Impacto Socio-Económico.....	12
Etiología.....	13
Periodo de incubación.....	14
Patogenia.....	14
Adhesinas y Lipoproteínas.....	16
Interacciones entre <i>Mycoplasma</i> y la modulación del sistema inmune.....	18
Inmunidad Innata.....	19
Inmunidad Adaptativa.....	20
Sistema inmunitario de mucosas.....	20
Mecanismos de defensa pulmonar.....	21
Factores que influyen a mecanismos de defensa alveolar.....	22
Signos Clínicos.....	22
Lesiones Microscópicas.....	23
Lesiones Macroscópicas.....	23
Diagnóstico.....	23
Aislamiento Bacteriológico.....	23
Histopatología.....	24
PCR.....	24
Serología.....	24
Alimentos Funcionales.....	25
Probióticos.....	25
Prebióticos.....	26
Simbióticos.....	26
$\beta$ -Glucanos.....	26
$\beta$ -Glucano de levaduras y hongos.....	27
Tratamientos.....	28
Objetivos.....	30
Objetivo I.....	30
Objetivo II.....	30
Objetivo III.....	30
Hipótesis.....	31
Metodología.....	32
Resultados.....	33
Análisis de resultados.....	39

<b>Conclusiones.....</b>	<b>48</b>
<b>Referencias.....</b>	<b>49</b>

## Resumen

El motivo de la elaboración de este proyecto es para buscar nuevas alternativas en el tratamiento de una de las infecciones más recurrentes de la industria porcícola. Debido al alto costo que representa el tratamiento contra *Mycoplasma hyopneumoniae* (productora de la neumonía enzoótica) el uso de  $\beta$ - glucanos como probióticos toma gran importancia dentro de los productos terapéuticos. La infección ocurre de manera mundial, produciendo grandes pérdidas económicas dentro de la industria porcina. Las pérdidas económicas se deben al alto precio de tratamientos y de vacunas que existen en el mercado, además de la adquisición de infecciones secundarias. Esta infección es altamente prevalente; aproximadamente del 38% a 100% en casi todas las áreas donde existe la producción porcina. El costo de la neumonía enzoótica a la industria porcícola es difícil de valorar, dado que la enfermedad causa muy pocas muertes, teniendo su mayor impacto en el retardo del crecimiento y aumento en el consumo de alimentos.

Dentro de este proyecto se pudo determinar que existe una regulación del sistema inmune de los lechones al ser suministrados con  $\beta$ - glucanos, esto se ha demostrado con la disminución en el porcentaje de lesiones pulmonares promedio obtenidos del grupo desafiado con *Mycoplasma hyopneumoniae* y que recibió tratamiento adyuvante al compararse con el porcentaje promedio obtenido en el grupo que solo fue desafiado con *M. hyopneumoniae*. El mecanismo por el cual se llegan a estos resultados aún son desconocidos, sin embargo diversos estudios reportan que tanto la microbiota intestinal, la regulación de la producción de citocinas pro-inflamatorias y la mejora en la actividad fagocitaria influye en el proceso de la infección.

Los datos no resultan ser del todo concluyentes, pues aún no se sabe cómo será su respuesta a largo plazo, es por esto que en investigaciones futuras se deberán realizar de manera adecuada las determinaciones de citocinas, las cuales permitirán evaluar los resultados de manera cuantitativa y así evaluar completamente el efecto del  $\beta$ - glucano al ser utilizado como probiótico, tomando en cuenta que aún no se pueden sustituir los tratamientos con antibióticos; al ser adyuvantes y administrarse de manera simultánea se obtendrán mejores resultados para combatir la infección.

A pesar de una importante disminución de la lesión, se requieren estudios que demuestren la eliminación completa del patógeno, ya que sin importar que la lesión disminuya, la lesión y la infección crónica persiste.



## Introducción

En la producción animal se persigue siempre conseguir una buena situación sanitaria y un buen rendimiento en carne para obtener resultados económicos rentables. Se sabe que hay una relación directa entre el funcionamiento del tracto intestinal y la tasa de crecimiento, índice de conversión y diversas enfermedades. Para evitar las enfermedades, se somete a los animales a tratamientos de antibióticos o quimioterapéuticos, capaces de eliminar no solo a los elementos patógenos sino también a la flora bacteriana necesaria para el buen funcionamiento del aparato digestivo (Lozano, 2002).

A medida que las enfermedades porcinas de carácter grave se han ido erradicando, las enfermedades crónicas han cobrado mayor importancia. En los países tecnificados, y especialmente en las zonas frías y húmedas, las neumonías ocupan ya el primer lugar en importancia (Pijoan, 2003).

Las enfermedades respiratorias son de los problemas más importantes asociados en la producción porcina. *Mycoplasma hyopneumoniae* es el principal agente etiológico de la Neumonía Enzoótica, una enfermedad de tipo crónico en cerdos. Esta patología se caracteriza por presentar una alta morbilidad y baja mortalidad; aunque los cerdos son susceptibles a cualquier edad, no suele ser observado en animales mayores a 6 semanas de edad. La prevalencia de la neumonía enzoótica es alta en animales en etapas medias de su desarrollo. Esta infección es altamente prevalente; aproximadamente del 38% a 100% en casi todas las áreas donde existe la producción porcina, *Mycoplasma hyopneumoniae* produce pérdidas económicas significativas (Simonatto et al., 2013; Sibila, et al., 2008).

El costo de la neumonía enzoótica a la industria porcícola es difícil de valorar, dado que la enfermedad causa muy pocas muertes, teniendo su mayor impacto en el retardo del crecimiento y aumento en el consumo de alimentos. Goodwin, Dewaele y Brassine calcularon las pérdidas en aproximadamente \$30,000 por cerdo engordado. Con el aumento de precio de la carne las pérdidas hoy en día deben de ser aproximadamente de \$40,000 por cerdo engordado a 100 kg; si consideramos que en el país se engordan 3,350,000 cerdos anualmente, el costo de esta enfermedad para esta industria porcícola podría ser de 13.4 millones de dolares al año (Simonatto et al., 2013; Sibila, et al., 2008).

La creación de la industria porcícola supone la explotación intensiva de los animales en un área relativamente restringida que favorece considerablemente la transmisión de enfermedades por vía respiratoria al estar en contacto más estrecho. Los sistemas de producción intensiva de cerdos en México enfrentan problemas para ser más eficientes, siendo uno de éstos el aspecto sanitario. Los problemas infecciosos crónicos que afectan el aparato respiratorio de los cerdos son de los más importantes

en estos sistemas de producción debido a la alta densidad de animales por metro cuadrado y al estrés causado por el manejo y la competencia entre los animales (Buenfil, et al., 2010; Pijoan, 2003).

El Complejo Respiratorio Porcino (CRP) es una patología compleja que involucra múltiples agentes etiológicos. Un agente infeccioso importante, por su constante presentación es *Mycoplasma hyopneumoniae*. En los últimos años esta bacteria ha demostrado ser el patógeno primario más importante del CRP. Este microorganismo causa bronconeumonía catarral típica que afecta hasta 40% del parénquima pulmonar ocasionando pérdidas a la industria porcina, en parte debido a la disminución en ganancia de peso, disminución en la eficiencia alimenticia y predisponiendo a los cerdos a otras infecciones. Las infecciones asociadas a *M. hyopneumoniae* producen cerdos más susceptibles a la pleuroneumonía contagiosa porcina causada por el patógeno primario más virulento del complejo respiratorio porcino, *Actinobacillus pleuropneumoniae*. *Mycoplasma hyopneumoniae* es uno de los iniciadores del complejo respiratorio porcino y se encuentra diseminado en casi todas las áreas productoras de cerdos, la vacunación no ha sido suficiente para eliminarlo de los hatos infectados, por esta razón los antibióticos se utilizan como alternativa o complemento para el control de la Neumonía Enzoótica. Se considera como el principal agente etiológico productor de neumonía enzoótica porcina, una enfermedad respiratoria crónica en cerdos. La infección se distribuye de manera mundial, produciendo grandes pérdidas económicas dentro de la industria porcina. Las pérdidas económicas se deben al alto precio de tratamientos y de vacunas que existen en el mercado, además de la adquisición de infecciones secundarias. Es uno de los iniciadores del complejo respiratorio porcino y se encuentra diseminado en casi todas las áreas productoras de cerdos, la vacunación no ha sido suficiente su eliminación de las piadas infectadas, por esta razón los antibióticos se utilizan como alternativa o complemento para el control de la Neumonía Enzoótica. Este microorganismo se encuentra en la superficie mucosa de tráquea, bronquios y alvéolos pulmonares; la destrucción del aparato mucociliar en conjunto con la modulación de la respuesta inmune promueve la susceptibilidad de cerdos infectados a patógenos secundarios. La severidad de las lesiones dependerá de diferentes factores, como lo es la bioseguridad, y la cepa de *Mycoplasma hyopneumoniae* (Maes, et al., 2017; Tavío, et al., 2014; Buenfil, et al., 2010).

La infección causada por *Mycoplasma hyopneumoniae* es de alta prevalencia en casi todas las áreas productoras de porcinos a nivel mundial; esta infección es caracterizada por una alta morbilidad y baja mortalidad, principalmente desencadenando pérdidas económicas debido a la disminución en el desarrollo de los cerdos y al alto costo de la medicación (Damte, et al., 2014).

*Mycoplasma hyopneumoniae* posee un genoma corto, carece de pared celular y es pleomórfico. Se considera un microorganismo difícil de aislar debido a su lento crecimiento y a su crecimiento excesivo potencial con otros mycoplasmas. El

crecimiento en medios de cultivo bacteriológicos es utilizado cuando se considera necesario su aislamiento, sin embargo, no es útil para diagnóstico. Una infección producida por *Mycoplasma hyopneumoniae* predispone a los animales a adquirir infecciones respiratorias recurrentes producidas por bacterias, parásitos y virus (Maes, et al., 2017) .

El diagnóstico se basa en tres parámetros: observación de signos clínicos, presencia de lesiones pulmonares y la detección de *M. hyopneumoniae* en dichas lesiones. Se han utilizado diversas estrategias para reducir las infecciones y pérdidas económicas; entre ellas, la vacunación de las cerdas y lechones y el uso de antibióticos en diferentes momentos y dosis durante la etapa de crecimiento de los animales. Debido a que, *Mycoplasma hyopneumoniae* es económicamente importante para la industria porcina, es urgente generar información tendiente a reducir su influencia en la producción de cerdos. Asimismo, el conocimiento del momento de infección podría ser de gran valor para el establecimiento de programas de control (Buenfil, et al., 2010; Espigares, 2016).

## Marco Teórico

### Primeros descubrimientos

El primero en diferenciar una neumonía de carácter infeccioso fue Shope, quien logró identificar la influenza del cerdo aislando el virus causal y reproduciendo la enfermedad. Entre 1933 y 1936 Kobe reconoció y describió otra enfermedad respiratoria del cerdo a la que denominó "Ferkelgrippe"; este término significa "enfermedad del lechón" y contribuyó a que durante años no se diferenciara entre esta enfermedad y la influenza descrita por Shope. Entre 1948 y 1949, Pullar, finalmente fue capaz de diferenciar estas dos enfermedades, confirmando que la nueva enfermedad podía ser transmitida por filtrados libres de bacterias de los pulmones afectados. La siguiente década vio redoblar los esfuerzos por esclarecer la etiología de la enfermedad (Pijoan, 2003).

### Primer Aislamiento

El primer aislamiento de *Mycoplasma hyopneumoniae* fue realizado por Switzer y por Goodwin simultáneamente en 1965, dando lugar a las cepas 11 y J, actualmente cepas de referencia, no patógenas, y utilizadas en muchas de las vacunas actuales. A partir de este momento la neumonía enzoótica se describió en muchos países y se considera aún como una de las enfermedades más comunes e importantes desde el punto de vista económico, ya que las pérdidas asociadas a la enfermedad son el resultado de una compleja interacción entre *Mycoplasma hyopneumoniae* y otras infecciones, un mal manejo y malas condiciones medioambientales (Espigares, 2016).

### Características de *Mycoplasma hyopneumoniae*

Además de no tener pared celular lo cual le confiere un marcado pleomorfismo, este microorganismo pertenece al grupo de los micoplasmas que son nutricionalmente exigentes para su crecimiento, destacándose su extrema lentitud (30 a 60 días) antes de observar mínimos cambios (ligera turbidez y cambio de color) que denuncian su presencia. En el cultivo de *Mycoplasma hyopneumoniae* resulta habitual la realización de varios subcultivos ciegos antes de inocular los medios sólidos los cuales se incuban en condiciones de microaerofilia (5-10% de CO<sub>2</sub>) en los que se hace visibles colonias al cabo de los siete días, a diferencia de otros micoplasmas no producen las típicas colonias en forma de huevo frito, sino más bien el crecimiento es irregular, como agrupaciones de células. La identificación de los aislados se lleva a cabo mediante pruebas clásicas como la inhibición del crecimiento o del metabolismo mediante la incorporación a los medios de cultivos de anticuerpos específicos y la inmunofluorescencia. *M. hyopneumoniae* es de difícil aislamiento y cultivo en función de sus exigencias nutricionales y también de la asociación, frecuente, con otros micoplasmas menos exigentes (*M. flocculare*, *M. hyorhinis* y *M. hyosynoviae*) (Lobo, 2005).

## Epidemiología

Hasta la fecha los únicos hospederos que pueden ser infectados por *Mycoplasma hyopneumoniae*, son los cerdos de crianza doméstica y los jabalíes; en cerdos domésticos no existen hallazgos donde indiquen que la susceptibilidad a este patógeno depende de la edad, a pesar de que la enfermedad se presenta mayoritariamente en etapas terminales de crecimiento. Los lechones son considerados libres de *Mycoplasma hyopneumoniae* hasta el nacimiento, esto se debe a que la transmisión dentro del útero no se ha documentado, y el primer contacto que se puede llegar a presentar con este patógeno es durante el periodo de lactancia; se ha sugerido al tiempo de lactancia como factor de riesgo para la colonización por parte de *Mycoplasma hyopneumoniae* previo al destete. Madres y lechones que se encuentran dentro de piadas de crianza se consideran reservorios de *Mycoplasma hyopneumoniae* que pueden llegar a afectar al sistema de producción por completo. Un aspecto crítico en la epidemiología de *Mycoplasma hyopneumoniae* se basa en la larga persistencia del patógeno (Maes, et al., 2017).

La transmisión de *Mycoplasma hyopneumoniae* tiene lugar principalmente a través de secreciones del aparato respiratorio de cerdos infectados, fundamentalmente por contacto directo nariz-nariz, especialmente entre cerdos de más de seis semanas, aunque también se produce transmisión vertical de cerdas, fundamentalmente primíparas, a lechones (Espigares, 2016).

El Complejo Respiratorio Porcino (CRP) es un problema respiratorio común en las granjas porcinas, que se ve influenciado por diferentes factores como; estrés, corrales sobrepoblados, ventilación deficiente, presencia de amoníaco, cambios bruscos de temperatura, desinfección inadecuada, fallas en la vacunación, deficiencias nutricionales, cerdos de diferentes orígenes, falta de cuarentena en animales de reemplazo, inmunidad deficiente, etc.(Maes, et al., 2017) .

Las enfermedades respiratorias se complican sí a lo anterior agregamos la participación de diferentes agentes etiológicos virales como los del Síndrome Respiratorio y Reproductivo Porcino (PRRS por sus siglas en inglés), Virus de Influenza Porcina (VIP), Circovirus Porcino (PCV2), Virus de la enfermedad de Aujeszky(VEA), Virus de la enfermedad del ojo azul (VEOA), *Mycoplasma hyopneumoniae*, *Mycoplasma hyorhinis*, y bacterias como: *Pasteurella multocida*, *Streptococcus suis tipo 2*, *Actinobacillus pleuropneumoniae*, *Haemophilus parasuis*, *Salmonella choleraesuis*, entre otros (Luehrs, et al., 2017).

La distribución geográfica de las infecciones producidas por *Mycoplasma hyopneumoniae* se asume que es mundial. La prevalencia es baja en poblaciones escandinavas y Suiza por ser parte del programa nacional de erradicación; al no ser una patología que requiera de notificación obligatoria, no se tienen datos de prevalencia por país, además de no ser impedimento para el intercambio comercial (Maes,D., et al., 2017).

A pesar de su prevalencia mundial y sus pérdidas económicas significativas, no ha existido una estrategia de control o prevención efectiva en contra de *M. hyopneumoniae* (Damte, D., et al., 2014).

### **Impacto Socio-Económico**

*M. hyopneumoniae*, al ser un patógeno específico del ganado porcino no presenta preocupación zoonótica ni es de gran impacto para la salud pública, sin embargo, es de gran importancia para la salud alimentaria. Las infecciones producidas por *Mycoplasma hyopneumoniae* causa mayoritariamente pérdidas económicas dentro de la industria porcina, principalmente por generar un rendimiento reducido, crecimiento desigual de ganado, y existe un aumento en los días necesarios para que pueda llegar al peso de matanza, requerir de tratamientos control y medicamentos en contra de la enfermedad, y un aumento en la mortalidad en caso de que se lleguen a generar mayores complicaciones dentro de la infección. Se ha reportado la reducción del crecimiento en ganado porcino del 6% al 16% en cerdos de término en varias áreas de producción alrededor del mundo. En infecciones de tipo subclínico se ha reportado una diferencia en la ganancia de peso de 38 g/ día entre seropositivos y seronegativos (Maes, D., et al., 2017).

Las pérdidas económicas por la presencia del Complejo Respiratorio Porcino son muy altas por los costos de vacunación, medicaciones, mortalidad a causa de infecciones secundarias y disminución en la ganancia diaria de peso que conduce a más días al mercado para obtener el peso final deseado (Holst, et al., 2015).

*M. hyopneumoniae* es el patógeno más importante en la Neumonía Enzoótica (NE) en cerdos, con frecuencia se encuentra asociado a otros patógenos como *Pasteurella multocida* y *Actinobacillus pleuropneumoniae*. Los costos de la Neumonía Enzoótica con presencia solo de *Mycoplasma hyopneumoniae* son de alrededor de 1 dólar por cerdo, pero cuando se encuentra asociado a una infección viral como Influenza o el virus de PRRS puede llegar hasta 10 dólares. En un estudio realizado por Bringas et al. (2014) se observó una pérdida de 70g en la ganancia diaria de peso y un aumento de 0.07 en el índice de conversión al comparar cerdos cuyo porcentaje máximo de lesión pulmonar estaba por encima del 25% (Holst, et al., 2015).

El censo mundial de ganado porcino es de aproximadamente 960 millones de cabezas, ubicándose alrededor de 60% en Asia, 20 % en Europa, y 16% en América. La distribución de la producción porcina es heterogénea, y mientras China concentra alrededor de 50 % del porcino mundial, otros países como los musulmanes no poseen producción porcícola. Durante 2016, 83.3 % del consumo mundial de carne de cerdo se concentró en cuatro países y una región: China (50.1% del total mundial), Unión Europea (19.0 %), Estados Unidos (8.7 %), Rusia (2.8 %) y Brasil (2.7 %). En el caso de México, el consumo de carne de cerdo representa 2.1% del total mundial. Los principales estados productores de carne de cerdo en canal son: Jalisco, Sonora,

Puebla, Guanajuato, Yucatán y Veracruz, quienes conjuntamente generaron alrededor de 76.5 % de la producción de carne de cerdo nacional en 2016 (Reyes, et al., 2018).

## **Etiología**

Las neumonías del cerdo son multifactoriales, de las cuales muchas no son de carácter infeccioso, tales como la inhalación de polvo y sobre todo, de pequeños trozos de alimento, heno, etcétera. Sin embargo, estas neumonías se pueden controlar con prácticas zootécnicas adecuadas de ventilación (Pijoan, 2003).

*Mycoplasma hyopneumoniae* es una bacteria perteneciente a la clase de los Mollicutes, con características específicas como no tener pared celular, por lo cual no son sensibles a los antibióticos que actúan sobre la misma, como los  $\beta$ -lactámicos. Está revestido externamente por fibrillas radiales, constituidas por glico y lipoproteínas (adhesinas) que permiten conexiones con la superficie ciliar de aparato respiratorio del cerdo. Sobrevive solo durante un corto periodo de tiempo en condiciones ambientales moderadas y puede destruirse con muchos desinfectantes (Espigares, 2016).

A pesar de sus diferencias entre un micoplasma y una bacteria, de acuerdo a aspectos relacionados con biología molecular, este tipo de bacterias son similares a bacterias gram positivas. Los micoplasmas son los microorganismos más pequeños que pueden replicarse por sí solos. También cuentan con un genoma pequeño (580–1350 kb) con un alto contenido de Adenina-Timina (aproximadamente 70%). *M. hyopneumoniae* pertenece a uno de los micoplasmas más frecuentemente aislados (cepas J, 232, 7448 y 168). Debido a su genoma pequeño, los micoplasmas presentan un metabolismo limitado, al igual que sus rutas de biosíntesis. La deficiencia de rutas biosintéticas implica que requieren adquirir aminoácidos, purinas y pirimidinas, y componentes de la membrana del ambiente en el cual se estén desarrollando (Simonatto, et al., 2013).

Otra característica importante, que está relacionada con el curso prolongado de la infección y la dificultad para el desarrollo de una inmunidad protectora total, es su plasticidad genética, que permite una considerable alteración de su estructura fenotípica, caracterizada principalmente por el cambio de las proteínas estructurales de superficie (Espigares, 2016).

La infección por *M. hyopneumoniae* provoca una pérdida de la motilidad de los cilios y de la integridad de las vías bronquiales, lo que reduce las defensas naturales de las vías respiratorias superiores y las hace más vulnerables a infecciones secundarias. Este microorganismo es un componente etiológico fundamental de dos síndromes patológicos de gran importancia que afectan a la industria porcina: la neumonía enzoótica y el complejo respiratorio porcino (CRP). Cuando la infección producida por

*Mycoplasma hyopneumoniae* no se asocia con otros microorganismos patógenos se presentan síntomas de tipo subclínico, dentro de los cuales destacan estornudos, reducción en la ganancia diaria de peso y una eficiencia menor en la alimentación; en caso de existir patógenos secundarios se presenta dificultad para respirar, pirexia y en varios casos, la muerte del animal (Espigares, 2016; Sibila, et al., 2009).

### **Periodo de Incubación**

Dentro de condiciones experimentales en las que se enfrentan a cerdos seronegativos a una alta concentración de *Mycoplasma hyopneumoniae* las lesiones pulmonares y el inicio de tos comienza a aparecer entre el día 7 al 14 después de la infección, donde la gravedad de la infección aumenta después de los 28 días de la infección. Se estableció que la dosis infectiva mínima para inducir las lesiones pulmonares es de  $10^5 UCC/mL$  por cerdo. Ya que la diferencia de virulencia existe entre cepas, la dosis infectiva mínima es probablemente dependiente de la cepa. Bajo condiciones naturales el periodo de incubación es difícil de predecir ya que depende del sistema de producción, presencia de infecciones secundarias, estatus inmune de los animales, la virulencia de la cepa; en granjas se han reportado que la sintomatología comienza entre 1 y 6 semanas después de la infección. *M. hyopneumoniae* se excreta del tracto respiratorio de animales infectados a través de la exhalación de partículas microscópicas durante episodios de tos o de tener contacto directo entre narices. Se ha encontrado restos de DNA de *Mycoplasma hyopneumoniae* dentro de cavidades orales, fluidos orales y muestras tonsilares (Maes, et al., 2017).

### **Patogenia**

El microorganismo tiene la habilidad de unirse a la fibronectina y polisacáridos sulfurados, los cuales forman un puente entre la bacteria y diferentes tipos de células del hospedero, provocando alteraciones en el citoesqueleto de dichas células, facilitando la internalización de estos microorganismos dentro del epitelio, debido al reordenamiento en los microfilamentos de actina (Vega, et al., 2017).

*Mycoplasma hyopneumoniae* se adhiere al epitelio ciliado respiratorio, donde comienza la ciliostasis, la destrucción de cilios y la posible muerte de células epiteliales. Como consecuencia de la adhesión del microorganismo al epitelio del tracto respiratorio, se produce una reacción inflamatoria, la supresión y modulación de la inmunidad innata y adaptativa; estos son pasos importantes durante la colonización en el organismo del hospedero. Se considera un patógeno hospedero-específico. Puede llegar a infectar a los animales vía inhalatoria cuando existen partículas que son expulsadas durante episodios de tos de animales infectados con la bacteria. Después de la inhalación, *Mycoplasma hyopneumoniae* debe superar el tracto mucociliar y las capas transversales de mucinas altamente glicosiladas. Estas son producidas mientras son atraídas las adhesinas que eliminan a los componentes



glicoconjugados y los de la matriz extracelular durante la colonización (Simonatto, et al., 2013).

Los macrófagos alveolares tienen un papel fundamental en la iniciación de una respuesta inflamatoria después de la colonización con *M. hyopneumoniae* se caracteriza por una obliteración en el lumen de alvéolos pulmonares, bronquios, bronquiolos y vasos sanguíneos, provocando daño al tejido, así como una hiperplasia del tejido linfoide asociado a bronquios (BALT), la cual se caracteriza por una infiltración celular de macrófagos, neutrófilos y linfocitos (Vega, et al., 2017).

Uno de los primeros mecanismos reconocidos por los *Mycoplasmas spp.* que causa daño en el hospedero es debido a que presentan una capacidad limitada para la biosíntesis de aminoácidos, ácidos grasos, cofactores y vitaminas por ello necesitan suplir dichas necesidades a partir del microambiente y realizar la biosíntesis de macromoléculas. Dicha competición compromete la integridad y funcionalidad de las células del hospedero. La interferencia de los canales de potasio (K<sup>+</sup>) del epitelio ciliar en tracto respiratorio alto y bronquios provoca un proceso de ciliostasis, aunado a ello la membrana de las células de hospedero es vulnerable a los efectos tóxicos del peróxido de hidrógeno y los radicales libres provocando necrosis o apoptosis en monocitos y macrófagos, dichos metabolitos son liberados como resultado de la adherencia entre los micoplasmas y las células (Vega, et al., 2017).

La activación de los macrófagos alveolares está mediada por el reconocimiento a partir de los receptores tipo Toll-like (TLRs), principalmente 2 y 6 que reconocen a las lipoproteínas de los micoplasmas, induciendo una respuesta inflamatoria por la activación del Factor nuclear Kappa B (NF-κB), activación de proteínas Kinasas (MAPK) como consecuencias una inducción en la secreción de citocinas incluidas: interleucina 1 y 6 (IL1, IL6), Factor de Necrosis Tumoral (TNF α) y Prostaglandina E2 (PGE2), las cuales son importantes mediadores en las respuestas crónicas de la inflamación a nivel pulmonar (Damte et al., 2011).

IL 4 e IL10 también son expresadas por células inflamatorias en vías aéreas de los animales infectados con *M. hyopneumoniae* disminuyendo la concentración de la citocinas pro inflamatorias y COX2, esto sugiere que dichas citocinas tienen un papel importante asociado a una regulación positiva en la respuesta inmune de tipo Th2, contribuyendo a una modulación de la inflamación y observándose una secreción de IgA local. La seroconversión es retardada en cerdos infectados con *M. hyopneumoniae* y es detectable a partir de los 28 días hasta los 90 días post infección (Feng et al., 2014).

Los mecanismos por los cuales *M. hyopneumoniae* induce cambios inmunopatológicos son poco entendidos, sin embargo, la protección contra la infección micoplasmal en porcinos está soportada por una respuesta inmune celular y humoral (Lorenzo et al., 2006).

El primer sitio de infección de *M. hyopneumoniae* es el borde apical de las microvellosidades del tracto respiratorio, es probable que las moléculas de superficie (proteínas y lípidos) del microorganismo y del hospedero faciliten el proceso de adhesión, sin embargo, la adherencia a la superficie de estas células, no es suficiente para generar el proceso de invasión (Vega, *et al.*, 2017).

### **Adhesinas y Lipoproteínas:**

La adhesión dentro de todo el epitelio ciliar del tracto respiratorio de los cerdos es el primer paso de la infección producida por *Mycoplasma hyopneumoniae* seguido por la inducción de ciliostasis y pérdida de los cilios. La primera adhesina es la p97 y sus parálogos; la otra familia de adhesinas se encuentra formada por p102 y sus parálogos. Se ha encontrado que la adhesina p159 no presenta relación a las otras dos mencionadas. Los receptores celulares presentes en las células eucariontes son glicosaminoglicanos y fibronectina principalmente, el anclaje masivo producido por *Mycoplasma hyopneumoniae* produce una topografía variada, la cual puede estar involucrada en la evasión y modulación de la respuesta inmune. Los fragmentos anclados de p97/p102 y de p159 permanecen en la superficie celular y funcionan como receptores de heparina, plasminógeno y fibronectina influenciando la interacción de *Mycoplasma hyopneumoniae* con su hospedero. P146 es una lipoproteína de adhesión, la cual contiene una región rica en serina; su base genética sirve para la genotipificación, se asume que juega un papel importante en la variación antigénica y la evasión inmunológica. *M. hyopneumoniae* coloniza células epiteliales del tracto respiratorio, dañando las células y predisponiendo a los animales infectados a invasores secundarios (Simonatto, *et al.*, 2013; Bogema, *et al.*, 2012).

A pesar de que los animales son susceptibles durante toda su vida, los que se encuentran en crecimiento, principalmente en las etapas finales, son los más afectados. Sin embargo en grupos que carecen de inmunidad, la enfermedad llega a afectar a cerdos de todos los grupos incluyendo animales que se encuentran amamantando y cerdos destetados (Simonatto, *et al.*, 2013).

La familia de *Mycoplasma*, en general, carece de factores de virulencia como lo son las toxinas; recientemente se ha encontrado que la producción de metabolitos como el peróxido de hidrógeno, pueden llegar a funcionar como mecanismos de virulencia. Se ha postulado que *Mycoplasma hyopneumoniae* tiene la habilidad de utilizar el glicerol como fuente de carbono permitiendo la producción de peróxido de hidrógeno (Maes, *et al.*, 2017).

Especies de mycoplasma han desarrollado estrategias para variar la topografía de su superficie, lo cual evade la detección y la erradicación de la bacteria por parte de la respuesta inmune del hospedero. *Mycoplasma hyopneumoniae* presenta un complejo transcripcional de organización del genoma que sugiere la existencia de mecanismos aún sin conocer que se encuentran involucrados en la regulación transcripcional. Tiene la capacidad de producir adhesinas, modulinas, agresinas e impedinas, las

cuales permiten la adhesión y la modulación del sistema inmune del hospedero. Además, sus antígenos de superficie son proteolíticamente procesados produciendo una translocación a través de la membrana. La habilidad de *Mycoplasma hyopneumoniae* para poder anclar de manera selectiva sus proteínas secretadas permite que el patógeno tenga una capacidad remarcable para alterar la estructura de su superficie (Bogema, et al., 2012).

Se han identificado un número de proteínas involucradas en la adherencia, pertenecientes a las adhesinas de la familia P97/ P102, donde se incluyen a Mhp182 (P102), Mhp183 (P97), Mhp 493 (P159), Mhp 494 (P216), Mhp 683 (P135), Mhp 271, Mhp 107 y Mhp 108 (P116). Estas adhesinas son expresadas, tanto en cultivos y de manera in vivo con cerdos infectados. Los fragmentos de P97, P216, P102, Mhp271, Mhp107 y Mhp683. han demostrado la unión a los cilios porcinos. P97 la primera adhesina identificada de *M. hyopneumoniae*; es capaz de reconocer a los receptores presentes en los cilios del epitelio respiratorio, y se considera un factor de patogenicidad. La porción C-terminal de P97, identificada como R1, es responsable de la unión a los cilios; ocho unidades de R1 repetidas son requeridas para esta adhesión. Existe variación debido a la adición o eliminación de aminoácidos repetidos, lo cual llega a resultar en la alteración de la proteína que interfiere con el reconocimiento por parte del sistema inmune. Sin embargo, otros factores o proteínas adicionales pueden llegar a ser requeridas para que se lleve a cabo la adhesión. La adhesina P102 es parte del mismo operón, tal y como P97, a pesar de que se ha descrito que su expresión está asociada, aparentemente a la unión del patógeno a los cilios, estudios sugieren que participa en la virulencia, debido a que se expresa durante la infección. Además de estos hallazgos, el rol de P102 y sus parálogos no se han identificado. Seymour et al en 2010 examinaron la expresión proteolítica de la superficie y los procesos que llevan a cabo P102 y su parálogo P116 (proteína procesada extensivamente en la cepa 232); los resultados sugieren que esta proteína es un determinante multifuncional de virulencia involucrado en el proceso de enfermedad producido por *Mycoplasma hyopneumoniae*. Los mismos autores han demostrado que P102 es una proteína que cuenta con habilidades multifuncionales, en las cuales destacan la capacidad de almacenar plasminógeno y fibronectina a la superficie de *M. hyopneumoniae*, sugiriendo que esta adhesina juega un papel importante en la virulencia. La unión del plasminógeno y fibronectina a la superficie de *Mycoplasma hyopneumoniae* se considera dosis dependiente y puede ser saturable de acuerdo a (Deutscher et al., 2012).

Las proteínas P102 y P97, se convierten en blancos importantes durante el proceso de infección. El plasminógeno se encuentra libremente disponible en el fluido broncoalveolar del pulmón porcino, y *Mycoplasma hyopneumoniae* despliega receptores de superficie que une al plasminógeno en un proceso que permite la conversión a plasmina utilizando activadores del plasminógeno proporcionados por el mamífero. Durante la colonización del epitelio ciliado secuestra plasminógeno con su superficie celular y facilita la conversión a plasmina. Este proceso debe de tener

ramificaciones para que se lleve a cabo la infección del tejido y la infección sistémica. Se ha realizado aislamiento de órganos internos, sugiriendo que el esparcimiento ocurre por vía linfática o circulación sanguínea. Se han dado aislamientos de hígado, bazo y riñones de cerdos experimentales. DNA de *Mycoplasma hyopneumoniae* ha sido detectado en estos mismos tejidos. *Mycoplasma hyopneumoniae* tiene un efecto modulador en el sistema inmune el cual no se tiene bien comprendido. Los macrófagos alveolares y linfocitos, al ser estimulados por *Mycoplasma hyopneumoniae*, produce citocinas pro-inflamatorias, las cuales son responsables de las lesiones pulmonares e hiperplasia linfoide, esto sugiere que se involucra al sistema inmune con el desarrollo de las lesiones. En general los micoplasmas son capaces de evadir las defensas naturales del hospedero. Se sabe que algunas especies patógenas utilizan su maquinaria genética para alterar sus antígenos de superficie, esto provoca la alteración en la respuesta del sistema inmune, permitiendo a la infección convertirse en crónica (Simonatto, et al.,2013).

### **Interacciones entre *Mycoplasma* y la modulación del sistema inmune**

Las infecciones producidas por *Mycoplasma hyopneumoniae*, son principalmente de tipo crónico, lo cual nos indica que existe un grado de evasión del sistema inmune por parte del microorganismo. Se ha confirmado que *Mycoplasma hyopneumoniae*, en algunas razas de cerdos existen producen "degeneraciones genéticas" que afectan su sistema inmune provocando la presencia de la enfermedad aún en ganado bien cuidado y bien protegido (Goedbloed, et al., 2015).

La destrucción del aparato mucociliar y la disminución de la modulación de la respuesta inmune en etapas tardías promueve la susceptibilidad de que adquieran un patógeno secundario. Se ha considerado a la respuesta inmune como el mayor productor de las lesiones pulmonares, además *Mycoplasma hyopneumoniae* se considera como un patógeno modulador de la respuesta inmune con el fin de persistir en el hospedero (Maes, et al., 2017).

Se secretan citocinas proinflamatorias durante el periodo de infección, tales como IL-1, TNF- $\alpha$ , IL-6 y plasmina; estos son los principales factores que se encargan de la regulación de la respuesta pro inflamatoria (Wooley, et al., 2013).

Las adhesinas de la familia P97/P102 interactúan con el plasminógeno del hospedero porcino y promueve su activación para convertirse en plasmina, una proteína sérica que estimula la señalización a los macrófagos resultando en la producción de especies reactivas de oxígeno y liberación de citocinas, además de contribuir a la inflamación. La leucina aminopeptidasa produce un efecto "luz de luna" , donde funciona como una adhesina multifuncional, dentro de sus funciones se encuentra la

unión y el anclaje de plasminógeno en la superficie celular de *Mycoplasma hyopneumoniae*. El plasminógeno se encuentra disponible en las vías aéreas ciliadas que han sido afectadas (Maes,D., et al., 2017; Bogema, et al., 2012).

La interacción que se produce entre la actina de la superficie celular y la producción de arreglos en el citoesqueleto permiten que el microorganismo sea fagocitado. Se tiene la hipótesis de que *Mycoplasma hyopneumoniae* puede llegar a sobrevivir dentro del fagolisosoma, escapar y residir dentro del citoplasma. Es así como este microorganismo no solo evade al sistema inmune, sino que también puede diseminarse a otros órganos internos y persistir sin causar daño alguno a hospedero (Bogema, et al., 2012).

La evasión inmune dada específicamente por el anclaje a inmunoglobulinas se ha descrito para *M. mycoides* subsp. *capri*. Es un sistema de dos proteínas que consiste en una MIB (Mycoplasma Ig binding protein) y una MIP (Mycoplasma Ig protease). donde MIB es necesaria para la actividad proteolítica generada por MIP. Estas dos proteínas están codificadas por dos genes organizados en tándem y frecuentemente se encuentran en múltiples copias de varios micoplasmas, incluyendo *Mycoplasma hyopneumoniae* (Maes, et al., 2017).

## **Inmunidad Innata**

La inmunidad innata consta de mecanismos de defensa celulares y bioquímicos, que existen antes incluso de la infección y que pueden responder con rapidez a ella. Los principales componentes de la inmunidad innata son: barreras físicas y químicas (como el epitelio y las sustancias químicas antimicrobianas producidas en las superficies epiteliales); células fagocíticas (neutrófilos, macrófagos), células dendríticas y linfocitos citolíticos naturales (NK); proteínas sanguíneas, incluidos miembros del sistema del complemento y otros mediadores de la inflamación, (Doménech, et al 2008).

El mecanismo más importante de la inmunidad innata es reconocer y limitar la diseminación de microorganismos durante las infecciones tempranas por medio de la activación de la fagocitosis, y autofagia como respuesta del reconocimiento de los patrones moleculares asociados a patógenos (PAMP's Pathogen- Associated Molecular Patterns), que se encuentran compartidos solamente entre los microorganismos, sin estar presentes en las células de los mamíferos, los cuales son captados por medio de receptores de reconocimiento de patrones (PRR Patter Recognition Receptor) comenzando una cascada de señalización para la transducción de mediadores químicos (Vega, et al., 2017).

## **Inmunidad Adaptativa**

El inicio de las respuestas inmunitaria adaptativa y su desarrollo requiere de la captación de sustancias específicas reconocidas como extrañas son denominadas antígenos, las Células Presentadoras de Antígenos (APC) son quienes cumplen dicha misión. Las células del sistema inmunitario adaptativo, normalmente están presentes en la sangre y en la linfa bajo la forma de elementos circulantes, configurando agregados dotados de una estructura anatómica en los órganos linfáticos y con una distribución dispersa prácticamente en todos los tejidos (Doménech, *et al.*, 2008).

Existen dos tipos de respuestas inmunitarias adaptativas, conocidas como inmunidad humoral e inmunidad celular. La inmunidad humoral cuenta con moléculas presentes en la sangre y en las secreciones de las mucosas denominados anticuerpos, producidos por los linfocitos B. Los anticuerpos se caracterizan por el reconocimiento de antígenos microbianos, para neutralizar la infección, así bien, márcalos como células dianas para su posterior eliminación (Abbas. *et al* 2012).

La inmunidad celular queda a cargo de los linfocitos T, los patógenos intracelulares como virus y algunas bacterias, sobreviven y proliferan en el interior de los fagocitos y de otras células del hospedero, donde los Anticuerpos circulantes no los tienen a su alcance. La defensa contra estas infecciones corresponde a fomentar la destrucción de los microorganismos residentes en los fagocitos y la desaparición de las células infectadas para suprimir sus reservorios de la infección (Janeway CA. *et al.*, 2001).

## **Sistema Inmunitario de Mucosas**

La respuesta inmune local de las mucosas es una herramienta clave para la defensa entre los Ag del medio ambiente externo con el medio interno del hospedero. Por lo que las funciones principales del sistema inmune de las mucosas son la inducción de tolerancia, la adaptación al medio y la protección. Es decir, el sistema inmune de las mucosas activa un mecanismo de exclusión inmune, mediado principalmente por anticuerpos de isotipo IgA (Vega-López 2007).

El sistema inmunitario en las mucosas está conformado por compartimentos difuso, como los ubicados en el epitelio, la lámina propia y otros bien definidos. Este tejido linfoide asociado a las mucosas (MALT) dependiendo de su situación anatómica recibe nombre específico de tejido linfoide asociado a intestino (GALT), tejido asociado a nasofaringe (NALT), asociado a bronquios (BALT), los cuales tienen características propias, dependiendo su localización. (Abbas *et al* 2012; Vega-López 2007).

En la mucosa gastrointestinal existen sitios especiales para la estimulación de la respuesta inmune, llamados sitios inductores y otros en donde se desarrolla la función

inmune, llamados sitios efectores. En el GALT se encuentran células especializadas (células M) que se encargan de “muestrear” el contenido del tracto intestinal. Debajo de este epitelio se localizan células presentadoras de Ag (CPA) células dendríticas las cuales tienen capacidad fagocítica y expresan en su superficie Complejos Mayor de Histocompatibilidad de tipo II (MHC II), para poder interactuar y activar a los Linfocitos T específicos contra el Antígeno procesado, estos Linfocitos proliferan y abandonan el sitio inductor a través de la sangre y llegan a otras mucosas como glándula mamaria, tracto respiratorio y genitourinario y posteriormente la mayoría de estas células llegan a la lámina propia por medio de la ecotaxia, mediado por moléculas que se expresan en la superficie de los linfocitos mucosales y endotelio alto. En estos Sitios inductores y efectores, lo que caracteriza una respuesta inmune activa es la presencia de las IgA (Vega-López *et al.*, 2007).

Las IgA en su mayoría se sintetizan en las células plasmáticas de la lámina propia de las mucosas y se secreta en forma de dímero unido a la cadena J a través del epitelio mucoso al interior de la luz del órgano. En las secreciones mucosas, la IgA se une a los microorganismos y toxinas presentes en la luz y los neutraliza mediante el bloqueo de la entrada al hospedero (Abbas *et al.*, 2012).

### **Mecanismos de defensa pulmonar**

El pulmón tiene un complicado sistema de defensa; su primera barrera es la remoción mecánica de partículas inspiradas. El aparato respiratorio puede eliminar eficientemente todas las partículas menos aquellas de menor tamaño, utilizando barreras mecánicas tales como el moco y vibras en la nariz, en epitelio ciliado, el moco en tráquea y bronquios y los cambios bruscos de dirección del árbol respiratorio, favorecen el depósito de partículas. Las partículas que se depositan en esta área son removidas rápidamente por el flujo del moco. El depósito de las partículas en diferentes partes del árbol respiratorio depende del tamaño de éstas. Así, las partículas de más de 10 micras se depositan en los cornetes nasales por su fuerza de inercia. Al descender para el árbol respiratorio, la velocidad de flujo de aire descende, y esto obliga a la sedimentación por gravedad de 10 a 2 micras en el epitelio traqueobronquial. Las partículas de menos de 0.5 micras no se depositan y se retiran con la expiración. Son entonces las partículas con diámetros entre 0.5 y 2 micras las que no se depositan y logran llegar hasta la pared alveolar. La diferencia en la eficiencia del despeje mecánico de partículas del epitelio traqueobronquial y el alveolo es marcada; mientras que el epitelio ciliado logra retirar el 90% de partículas depositadas en menos de una hora, el alveolo solo puede retirar el 50% en cuestión de horas, mientras que el resto puede tardar meses o no ser retirado. Como la mayor parte de bacterias y micoplasmas están comprendidas entre las 0.5 y 2 micras el pulmón debe atacar con mecanismos de defensa a nivel alveolar. (Green, 1971 ; Hatch, 1961)

La infección experimental de animales con microorganismos patógenos, resulta en la inactivación de bacterias, excepto en aquellos casos en que los mecanismos antimicrobianos se encuentran deprimidos, por ejemplo, con etanol o por una infección concurrente por virus. El principal responsable de esta inactivación es el macrófago alveolar. Este macrófago es muy eficiente como bactericida, ya que contiene altos niveles de lisozima, y cantidades considerables de inmunoglobulinas. (Pijoan, 2003; Green, 1965)

### **Factores que influyen a mecanismos de defensa alveolar**

Por un lado, está la presencia o ausencia de gérmenes patógenos, por otro lado, están los factores de manejo, en especial lo que se refiere a temperatura, humedad del ambiente. Varios autores mencionan que la temperatura óptima para el crecimiento de cerdos varía de 20-25°C, para lechones y de 9-15°C para cerdos adultos, con una humedad óptima del 70 al 80%. La peor combinación es la de bajas temperaturas con menos de 6°C con altos niveles de humedad (90%). Estos niveles de humedad no solo afectan la eficiencia defensiva del cerdo sino también la supervivencia de bacterias en el aire, ya que las bacterias en aerosol son más sensibles a humedades de 60-80%. Aunque se han realizado investigaciones sobre el efecto que ejercen los gases que se concentran en las zahurdas, y en especial del amoníaco, H<sub>2</sub>S y el CO<sub>2</sub>, los niveles que se encuentran en las zahurdas, aun estando en los peores estados de ventilación no parecen ser tóxicos. Un último factor de manejo que debe tomarse en cuenta, especialmente en instalaciones con mala ventilación, es el efecto nocivo que pueden ejercer ciertas partículas inertes sobre el pulmón. Estas son muy frecuentes, en especial cuando se dan alimentos secos. (Pijoan, 2003)

### **Signos Clínicos**

El principal signo clínico es la presencia de tos seca, la cual puede ser de intensidad variable dependiendo de la dosis infectiva de *Mycoplasma hyopneumoniae*, principalmente en cerdos que se encuentran en las etapas finales de producción; las co-infecciones pueden producir fiebre, anorexia y dificultad para respirar. Para la identificación de los síntomas, se requiere una observación constante de los animales de los cuales se sospeche una infección. Se realiza la cuantificación de toses producidas dentro de un periodo de tiempo; esto es utilizado para estudios de transmisión, patogenia e incluso para evaluar el efecto de las vacunas utilizadas; siendo utilizado tanto en condiciones ambientales como experimentales. Sin embargo, debido a su baja especificidad diagnóstica y la presencia de síntomas subclínicos requieren nuevos métodos de diagnóstico. (Sibila, et al., 2009)



### **Lesiones Macroscópicas**

Las lesiones macroscópicas consisten en áreas de consolidación pulmonar cráneo-ventral, de color púrpura a gris. Al corte, la superficie de las zonas neumónicas puede liberar exudado mucopurulento de las vías respiratorias. Son habituales las infecciones secundarias con otros patógenos respiratorios, lo que modifica la apariencia de las lesiones iniciales. (Espigares.,2016)

### **Lesiones Microscópicas**

Microscópicamente, consisten en una neumonía bronquiolo intersticial, caracterizada por la hiperplasia de tejido linfoide asociada a bronquios y bronquiolos (BALT). Además, la presencia de otras bacterias dará lugar a una bronconeumonía catarral purulenta. (Espigares,2016)

### **Diagnóstico**

El diagnóstico presuntivo de neumonía por *M. hyopneumoniae* se basa en los síntomas clínicos, los cuales son tos crónica no productiva, con un bajo rendimiento, y las áreas de consolidación en la zona cráneo-ventral del pulmón. Sin embargo, ni los síntomas clínicos, ni las lesiones pulmonares son patognomónicas. Además, las infecciones mixtas suelen producir síntomas y lesiones menos típicas de la enfermedad. (Espigares,2016)

#### **Aislamiento Bacteriológico**

El aislamiento y cultivo de *Mycoplasma hyopneumoniae* a partir de pulmones infectados se considera el estándar de oro para técnicas diagnósticas. El aislamiento se realiza mediante cultivo Friis, es lento, laborioso, difícil y generalmente no se puede realizar de forma rutinaria, debido a los requerimientos nutricionales que la bacteria necesita para crecer, pudiendo tardar en ello de 4 a 6 semanas, además de las altas posibilidades de contaminaciones por otros micoplasmas. Presenta además el inconveniente de que nos detecta la presencia del patógeno, pero no su papel dentro del Complejo Respiratorio Porcino. (Thacker, 2006; Espigares, 2016)

La naturaleza fastidiosa de los micoplasmas y la carencia de sistemas genéticos que permitan conocer sus proteínas estructurales han frenado el entendimiento de sus características biológicas, además de presentar altas probabilidades de contaminación por *M. hyorhinis* o *M. flocculare* (Maes, 1996; Simonatto ,2013)

## **Histopatología**

Además de las lesiones causadas por *Mycoplasma hyopneumoniae*, hay métodos para demostrar la presencia del agente en secciones histológicas de lesiones pulmonares, como son la Inmunohistoquímica y la Hibridación In Situ. Estas son técnicas que tienen la ventaja de asociar el patógeno con lesión producida, sin embargo, son escasamente utilizadas por su baja sensibilidad y la necesidad de técnicos experimentados para su realización, siendo además procedimientos largos y laboriosos. (Espigares, 2016)

## **PCR**

Mediante PCR, se puede detectar el DNA de *Mycoplasma hyopneumoniae* en tejido pulmonar, frotis nasales y lavados traqueobronquiales o bronco-alveolares. Es vital recurrir a técnicas de PCR cuantitativas que nos informen de la cantidad de material genético presente en la muestra, lo cual teniendo en cuenta que cepas más virulentas presentan un mayor grado de multiplicación a nivel pulmonar, nos dará una idea más exacta del papel que juega este *Mycoplasma hyopneumoniae* en la enfermedad respiratoria que presentan los animales, por tanto una buena interpretación de los resultados de PCR cuantitativas se torna fundamental para un correcto diagnóstico. (Espigares, D.,2016)

## **Serología**

Se disponen de técnicas de ELISA. Las pruebas serológicas son utilizadas para realizar monitoreos del estado de salud de los cerdos. La detección de anticuerpos contra *Mycoplasma hyopneumoniae* se puede realizar por técnicas de ELISA y de manera menos común por pruebas de fijación del complemento. La técnica de ELISA es una prueba que permite determinar la cantidad de anticuerpos circulantes frente a *Mycoplasma hyopneumoniae* y puede ser utilizada para el desarrollo de estudios tanto de tipo transversal como longitudinal. Es una técnica rápida, de bajo costo y automatizada que proporciona información útil para determinar enfermedad por transmisión vertical y horizontal, la producción de anticuerpos y el tiempo requerido para llevar a cabo la seroconversión. Los inconvenientes de la serología son la aparición de reacciones cruzadas con otros micoplasmas, la imposibilidad de distinguir anticuerpos vacunales de los generados por la enfermedad y el hecho de que la virulencia de la cepa implicada nos va a condicionar el momento de seroconversión. Cuando se presentan discrepancias en los resultados se requiere realizar un inmunoensayo Western Blot, donde el objetivo sea la

identificación de antígenos producidos por *Mycoplasma hyopneumoniae*, lo cual sirve como prueba confirmatoria. Los resultados pueden llegar a variar al momento de realizar un ELISA dependiendo del Kit que se esté utilizando ya que no existe la capacidad para diferenciar una infección natural de una vacunación; además otro factor importante es la seroconversión ya que esta se lleva de manera más lenta en condiciones naturales que en condiciones experimentales. El retraso en la seroconversión asociado con la infección puede deberse a que *Mycoplasma hyopneumoniae* se adhiere al epitelio ciliado respiratorio y no invade el tejido pulmonar como lo llegan a hacer otros microorganismos patógenos; esto puede ser el motivo por el cual existe una presentación de antígeno más lenta en el hospedero. (Espigares, 2016; Ameri, *et al.*, 2006; Sheldrake *et al.*, 1990; Maes *et al.*, 1996).

## **Alimentos funcionales**

Son aquellos alimentos cuyos componentes influyen sobre una o varias funciones del organismo y originan un efecto positivo sobre la salud. Se consideran como alimentos funcionales a los prebióticos, probióticos, simbióticos, y los antioxidantes, subproductos secundarios del metabolismo de diversos alimentos (Bellisle, *et al.*, 1998; Roberfroid, 1996).

## **Probióticos**

Autores definen como probióticos a los complementos alimentarios que benefician a quien los consume mejorando el balance de la microflora intestinal; modifican la composición o la actividad de la microflora, o ambas. Los probióticos pueden no necesariamente ser organismos vivos, sino que puede incluir productos de su metabolismo, células muertas, partículas o porciones de microbios inactivados que tienen efectos positivos (Escalante, 2001).

Para que un alimento se pueda considerar como probiótico autores Europeos indican que deben cumplir con ciertas condiciones, las cuales son: no deben ser sensibles a enzimas proteolíticas gastrointestinales; debe ser capaz de sobrevivir al ambiente ácido que pasa al atravesar el estómago; debe ser estable frente a ácidos y bilis; debe tener la capacidad de adherirse a superficies epiteliales; tiene que sobrevivir al ecosistema intestinal; producir compuestos antimicrobianos; permanecer vivo (o activo) y estable durante su empleo; debe contar con un mecanismo específico de

adhesión al intestino; y tener una capacidad de crecimiento rápido en las condiciones del ciego (DeSimone, et al., 1991).

### **Prebióticos**

Son sustancias parcialmente digestibles que se encuentran en los alimentos. Los oligosacáridos no digestibles en general y los fructooligosacáridos en particular, son prebióticos; son conocidos como estimulantes del crecimiento de bifidobacterias y lactobacilos, los cuales después de un corto periodo de ingestión del prebiótico predominan en el intestino (Roberfroid, 2000; Gibson, Roberfroid, 1995).

### **Simbióticos**

Un simbiótico incluye un probiótico y un prebiótico en el mismo producto. Esta mezcla es benéfica para el organismo consumidor, debido a que las bacterias no patógenas se establecen en el tubo digestivo por la estimulación selectiva de su crecimiento y por la activación del metabolismo de estas bacterias promotoras de la salud. Esta combinación podría llegar a mejorar la supervivencia de las bacterias a su paso por la parte superior del tubo digestivo reforzando sus efectos en el intestino grueso, además de que estos efectos podrán ser aditivos o sinérgicos; la combinación puede llegar a mejorar la estabilidad del probiótico, ya que se dispone del sustrato específico de manera rápida para su fermentación y resulta en una mayor efectividad que la que produce el microorganismo vivo y el prebiótico por separado (Collins, 1999; Roberfroid 2000; Schrezeimeir, et al., 2001 ).

### **$\beta$ -Glucanos**

Los  $\beta$ -glucanos son un tipo de fibra soluble que tiene efectos propuestos sobre la glicemia, los niveles de insulinemia, el colesterol y la inmunidad. Cereales como la cebada y la avena son reconocidos como buenas fuentes de  $\beta$ -glucanos, sin embargo, también se encuentran en algas y hongos. Asimismo, sus propiedades parecen estar relacionadas con su peso molecular, estructura química y características reológicas, las cuales pueden variar según el origen del  $\beta$ -glucano. Comprende a un grupo heterogéneo de polímeros de glucosa, el cual en mayor parte es el constituyente de paredes celulares de cereales, hongos y macroalgas. Se considera fuente de fibra dentro de la dieta diaria en animales, además se ha demostrado que tiene características inmunomodulatorias. Existen variaciones

considerables entre las características bioquímicas y de solubilidad de beta glucano dependiendo de donde provengan; el beta glucano que proviene de levaduras como *Saccharomyces cerevisiae*, se compone principalmente de  $\beta$ -(1→3)-glucano (en un 85%) de alto peso molecular y contiene aproximadamente un 3% de enlaces  $\beta$ -(1→6)-glucosídico, además el  $\beta$ -glucano obtenido de *S. cerevisiae*, se estima que es un 90% insoluble en agua (Sweeney, *et al.*, 2012).

Estos compuestos, están implicados en el aumento de las citocinas pro-inflamatorias (IL-1, IL-2, IL -6, FNT- $\beta$ , y IFN- $\beta$ ), reacciones oxidativas y quimiotaxis. La utilización de  $\beta$  -D-glucanos en los cerdos estimula de manera inespecífica al sistema inmunocompetente y permite hacer más resistente al animal a enfermedades infectocontagiosas que son frecuentemente inducidas por estrés (Williams *et al.*, 1996; Brown., 2006; Xiao *et al.*, 2004).

### **$\beta$ - Glucano de levaduras y hongos**

Los  $\beta$ -glucanos provenientes de hongos y levaduras tienen efectos en la modulación del sistema inmune. Dicho efecto podría deberse a la capacidad de los  $\beta$ -glucanos de estimular receptores del sistema inmune innato presentes en la membrana de los enterocitos, de las células M y de las células dendríticas, mejorando la actividad fagocítica de los macrófagos y la actividad antimicrobiana de las células mononucleares y de los neutrófilos. Este tipo de  $\beta$ -glucanos también prevendría la promoción y progresión de ciertos tipos de cáncer, actuando en forma sinérgica con los anticuerpos monoclonales y la quimioterapia. Esta estimulación de la inmunidad se lograría mediante el aumento de la secreción de citocinas pro-inflamatorias y de quimiocinas. El principal receptor implicado en el efecto de los  $\beta$ -glucanos sobre la inmunidad sería la dectina-1, a pesar de que recientemente también se haya propuesto un papel para el receptor 3 del complemento, la lactosil-ceramida, los TLR-2 y TLR-6 y los receptores "scavengers". La dectina-1, conocida en el ser humano como el receptor de  $\beta$ -glucanos ( $\beta$ GR), es miembro de los Receptores de Reconocimiento de Patrones (PRR) quienes cumplen un rol esencial en la respuesta inmune innata dirigida contra virus, bacterias, levaduras y hongos, contribuyendo al reconocimiento y eliminación de los patógenos. Este receptor es altamente expresado en células inmunes tales como las células dendríticas, los neutrófilos, eosinófilos y monocitos, así como en algunas poblaciones de células T y B y, en menor medida, en macrófagos y enterocitos. La dectina-1 actúa mediante transducción de señales a través de la activación de las vías Syk y Raf-1. También puede actuar en forma sinérgica con los TLR que median la producción de citocinas pro-inflamatorias como la IL-12 y el TNF- $\alpha$  (Volman, *et al.*, 2008; Wang, *et al.*, 2004; Xu, *et al.* 2012; Harada,

et al., 2010; Brown, 2006; Călugăru, *et al.*, 2009; Zhou, *et al.*, 2009; Pizarro, et al., 2014).

El  $\beta$ -glucano que se obtiene a partir de *S. cerevisiae* ha demostrado la capacidad de reducir la población de *Enterobacteriaceae* localizado en íleon y colon, sin afectar las poblaciones de lactobacilos y bifidobacteria. (Sweeney, *et al.*, 2012)

Se ha reportado que los  $\beta$ -glucanos de *S. cerevisiae*, la levadura utilizada para la elaboración de pan o de cerveza, estimulan los macrófagos a través de la activación de NF- $\kappa$ B, disparando varios eventos celulares que resultarían en la producción de citocinas y el aumento de la fagocitosis. La hipótesis de la asociación entre el receptor de dectina-1 y los  $\beta$ -glucanos. (Lebron, *et al.* 2003)

Actualmente se producen 2 formas de  $\beta$ -glucanos de *S. cerevisiae*: una forma particular insoluble (Whole Glucan Particle - WGP) y otra soluble (PGG-glucano). El WGP se obtiene por purificación a partir de paredes celulares deshidratadas de levaduras después de la extracción de las proteínas celulares, ácidos nucleicos, lípidos y oligosacáridos (quitinas y mananos); ha recibido el nombre común de zymosan. La empresa Biothera (USA) comercializa Wellmune<sup>®</sup> (WGP) como BetaRight B-WGP (70%  $\beta$ -glucanos) y como Wellmune Dispersible WGP-D (75%  $\beta$ -glucanos); también existe una forma soluble, Wellmune WGP-S (75%  $\beta$ -glucanos). El PGG, llamado betafectina (poli-1-6-beta-D-glucopiranosil-1-3-beta-D-glucopiranosa) es un polímero de glucosa altamente purificado y ramificado obtenido por la hidrólisis ácida del WGP. Ambas formas de  $\beta$ -glucanos han sido evaluadas en estudios pre-clínicos y clínicos. (Jamás, S. y Ostroff, G., 1996; Volman, *et al.*, 2008; Kournikakis, *et al.*, 2003; )

## Tratamientos

La mejor forma de controlar la infección por *M. hyopneumoniae* consiste en una combinación de optimización del manejo, mejora de la inmunidad de la granja y reducción de la carga patógena (prevención). Hasta la fecha no se ha conseguido erradicar nunca la infección solamente a base de vacunas; los esquemas de erradicación han demostrado ser caros y con probabilidades de re-infección. (Maes, *et al.*, 2008)

El uso de probióticos para el tratamiento de varias enfermedades y para el mantenimiento de la buena salud, se ha convertido en un área importante de estudio.

Los probióticos han sido utilizados en la actualidad para tratar diversas afecciones, tales como diarrea, gases, infecciones vaginales causadas por levaduras, infecciones del tracto urinario, y para el control de inflamación intestinal. Los estudios que se están llevando a cabo, se encuentran en la evaluación de su uso contra cáncer de colon, infecciones de piel, síndrome de intestino irritable, enfermedades hepáticas, rinoconjuntivitis, rinosinusitis y mejorar la salud pulmonar. (Samuelson, *et al.*,2015)

## **Objetivos**

Evaluar la respuesta productiva e inmunológica de lechones suplementados con un beta glucano purificado después de un desafío con *Mycoplasma hyopneumoniae* con el fin de evaluar su efecto probiótico en la modulación de la respuesta inmune.

Determinar los niveles de anticuerpos contra *Mycoplasma hyopneumoniae* de cada una de las etapas de desafío y tratamiento.

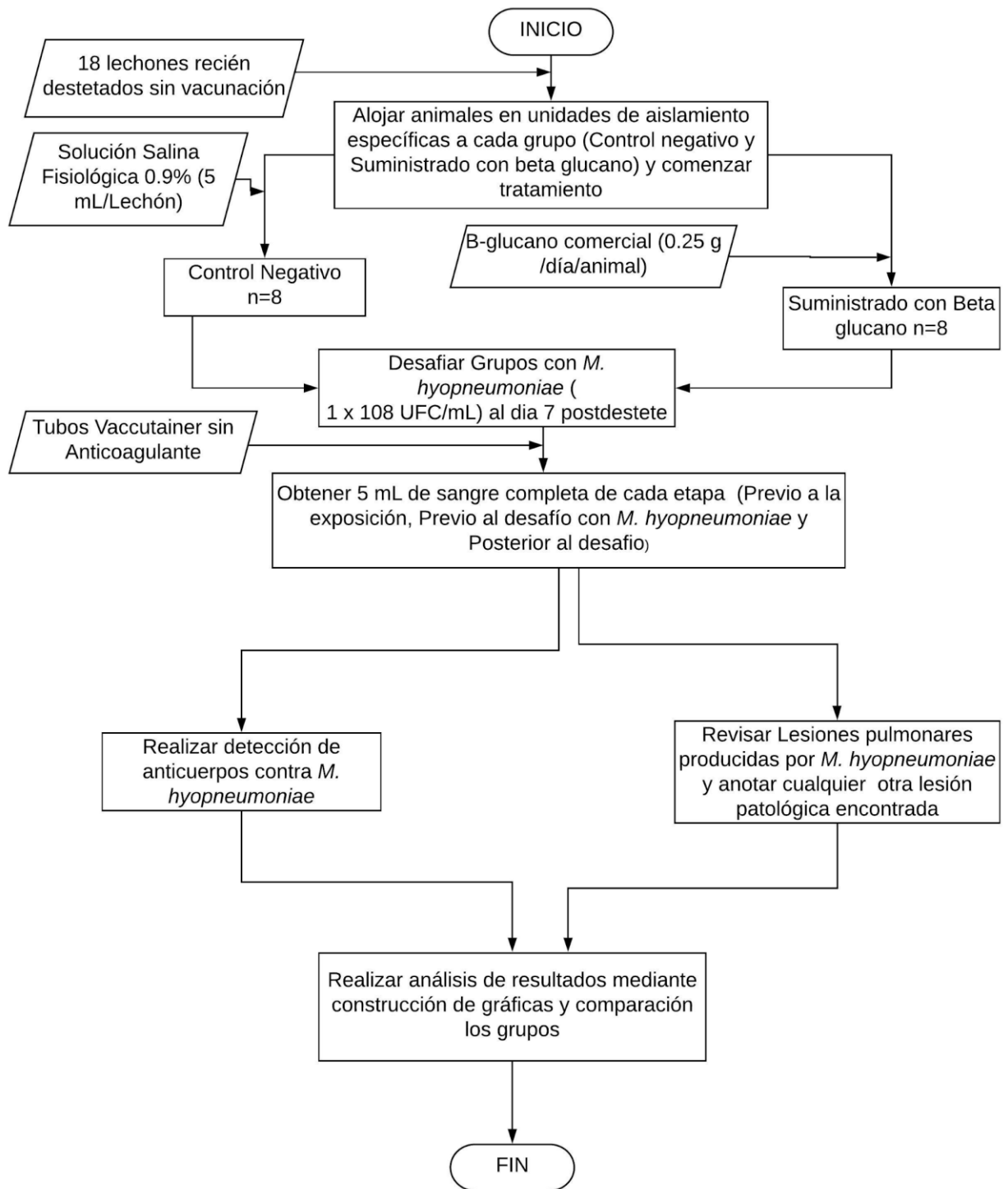
Categorizar de manera cualitativa el grado de lesiones pulmonares de los animales desafiados con *Mycoplasma hyopneumoniae* por técnicas histopatológicas.



## Hipótesis

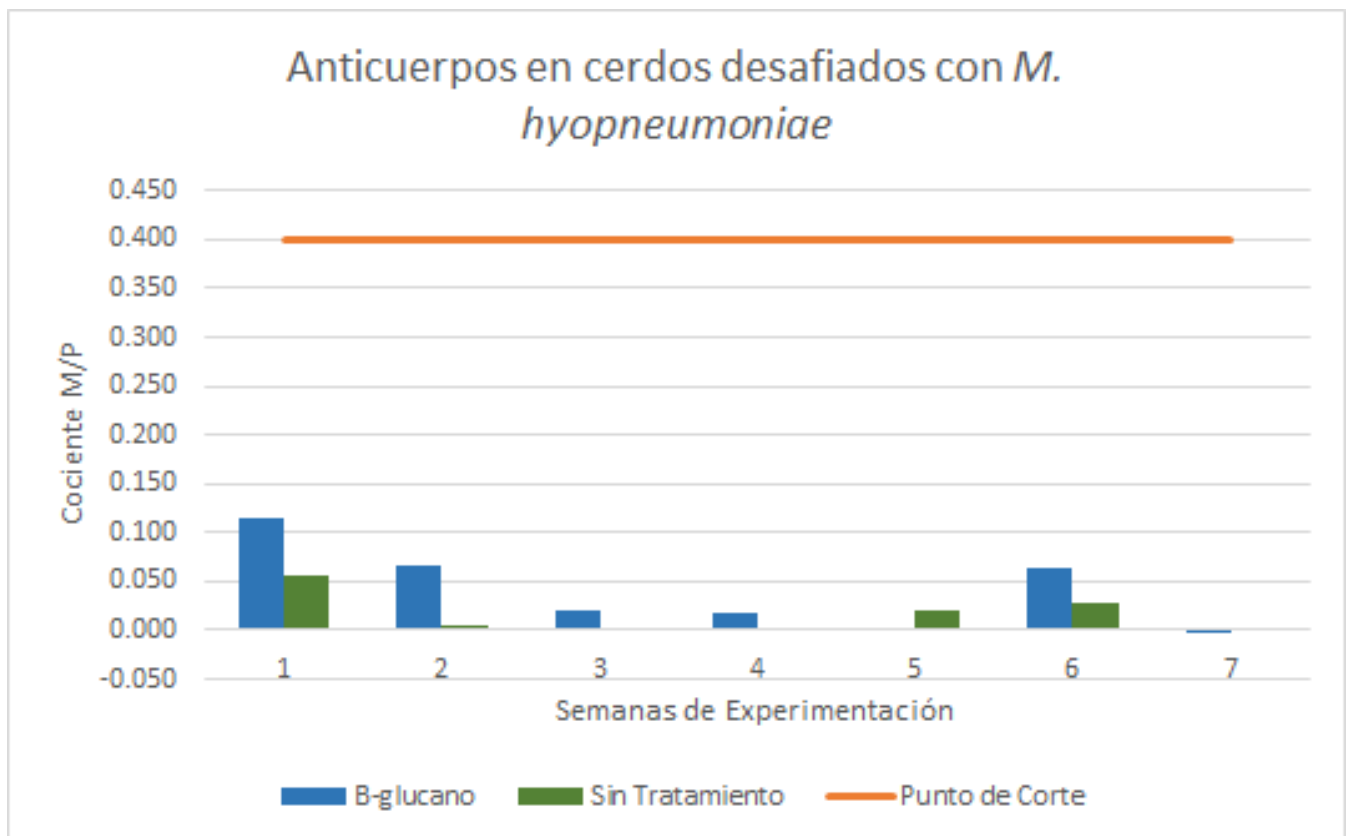
Si se suministra  $\beta$ -glucano como prebiótico previo al desafío con *Mycoplasma hyopneumoniae* disminuirá el porcentaje de lesión producida por el microorganismo al modular la respuesta inmune, entonces existirá protección.

## Metodología



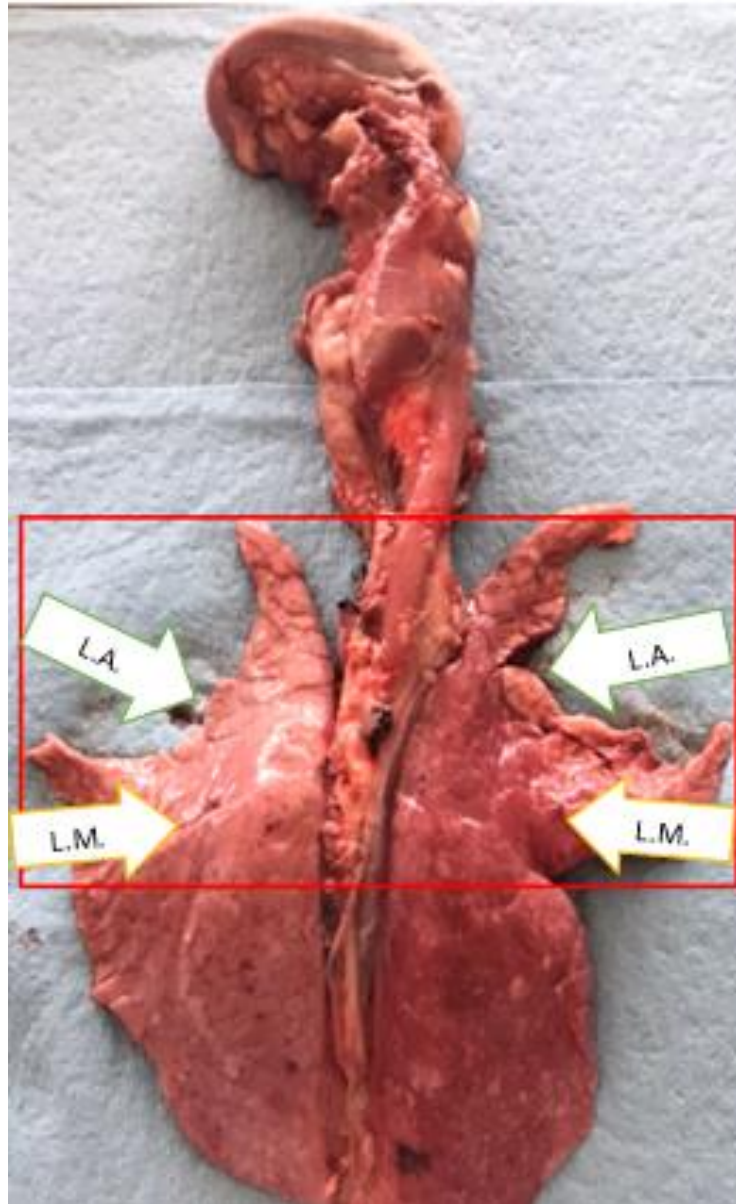
## Resultados

En la gráfica 1 se realiza la comparación entre los promedios de desviaciones ópticas obtenidas a través de las semanas de experimentación de cada uno de los grupos analizados. El tratamiento con  $\beta$ -Glucano se dio durante la semana 1 a la semana 3 de experimentación; durante la semana 4 se realizó el desafío con *Mycoplasma hyopneumoniae*. Se puede observar que en ninguna de las etapas de las dos poblaciones se puede tomar como muestras positivas a la presencia de anticuerpos de *M. hyopneumoniae* debido a que los resultados obtenidos del Cociente M/P son menores al punto de corte de 0.400, sin embargo, podemos resaltar la cinética de la producción de anticuerpos como resultado de la transmisión de anticuerpos por parte de la madre y los producidos durante y después del desafío



Gráfica 1. Anticuerpos en cerdos desafiados con *M. hyopneumoniae*

En la imagen 1 se observa los pulmones obtenidos de un cerdo perteneciente al grupo control negativo (sanos), en el que se destaca en un rectángulo rojo los lóbulos apicales (L.A.) y lóbulos medios (L.M.) sin presencia de lesiones características, producidas por *Mycoplasma hyopneumoniae*.



**Imagen 1. Pulmones obtenidos de cerdo sano, sin presencia de lesiones**

En la imagen 2 se observa los pulmones de un cerdo perteneciente al grupo sin tratamiento que tuvo el mayor porcentaje de lesión; en el área de lóbulo medio izquierdo y parte del lóbulo apical izquierdo presenta la lesión macroscópica característica de *Mycoplasma hyopneumoniae*

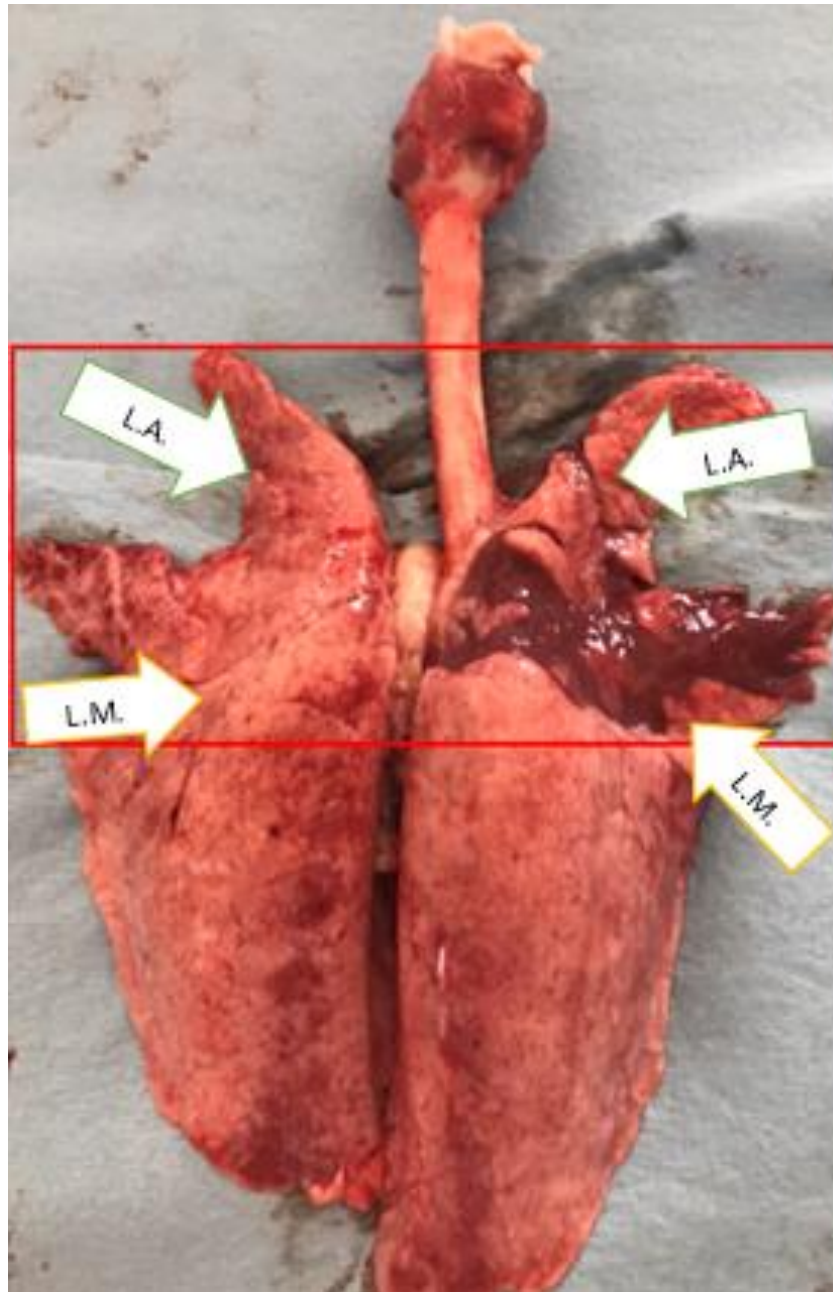


Imagen 2. Pulmón de cerdo perteneciente al grupo sin tratamiento con lesiones macroscópicas

En la imagen 3 se observa los pulmones obtenidos de un cerdo perteneciente al grupo desafiado con *Mycoplasma hyopneumoniae* y que recibió tratamiento previo con  $\beta$ -Glucano previo al desafío; en el área intermedia del lóbulo medio izquierdo y lóbulo apical izquierdo presenta una pequeña lesión en el extremo. En promedio las lesiones obtenidas del grupo fueron menores al 2% por lo que se demuestra que existe un efecto protector del probiótico al suministrarse previamente al desafío

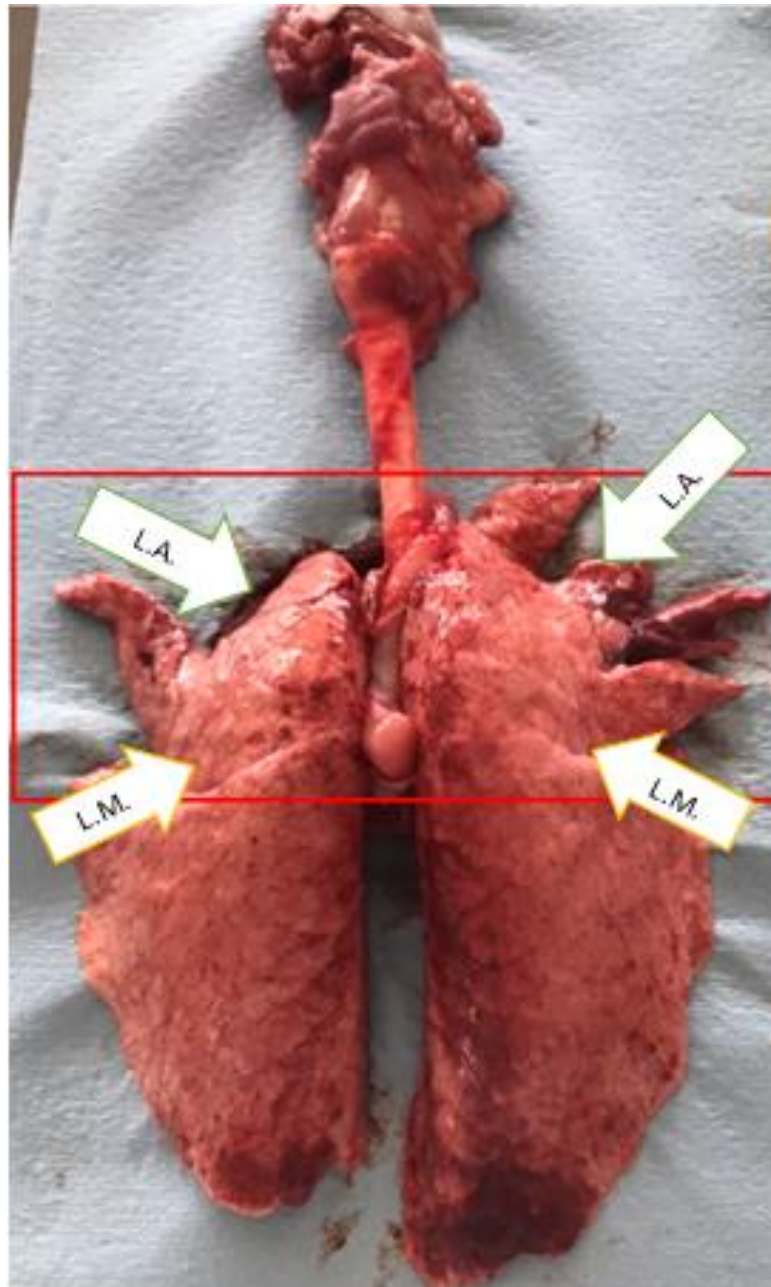
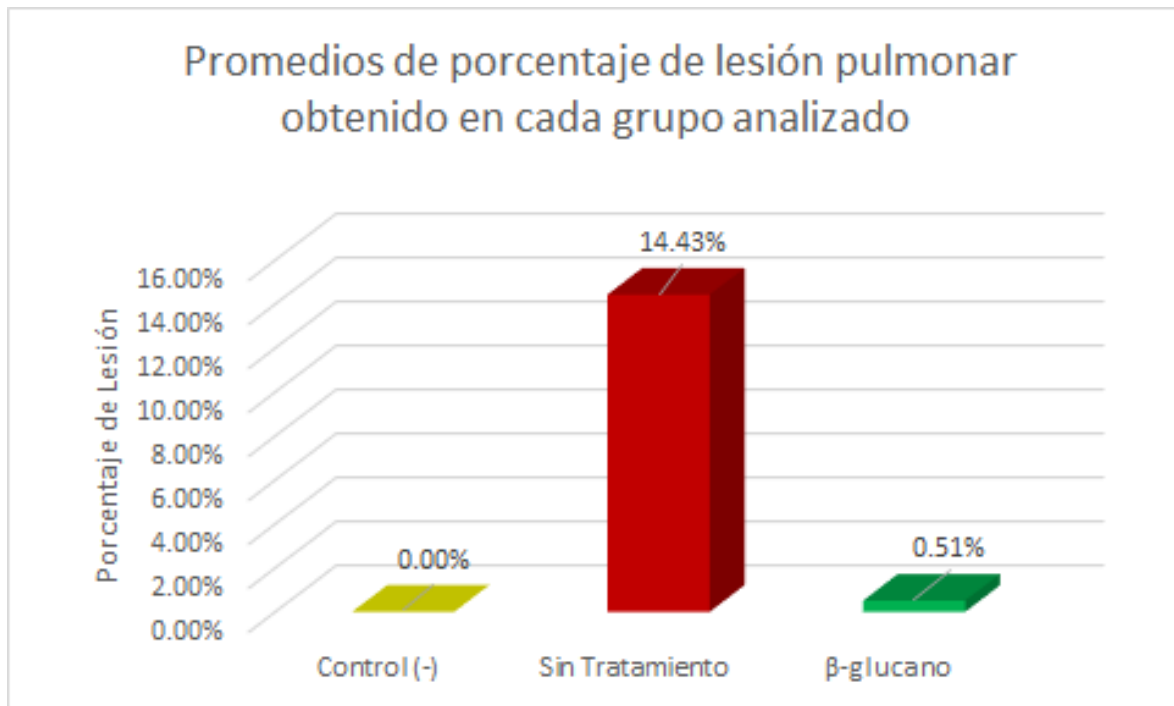


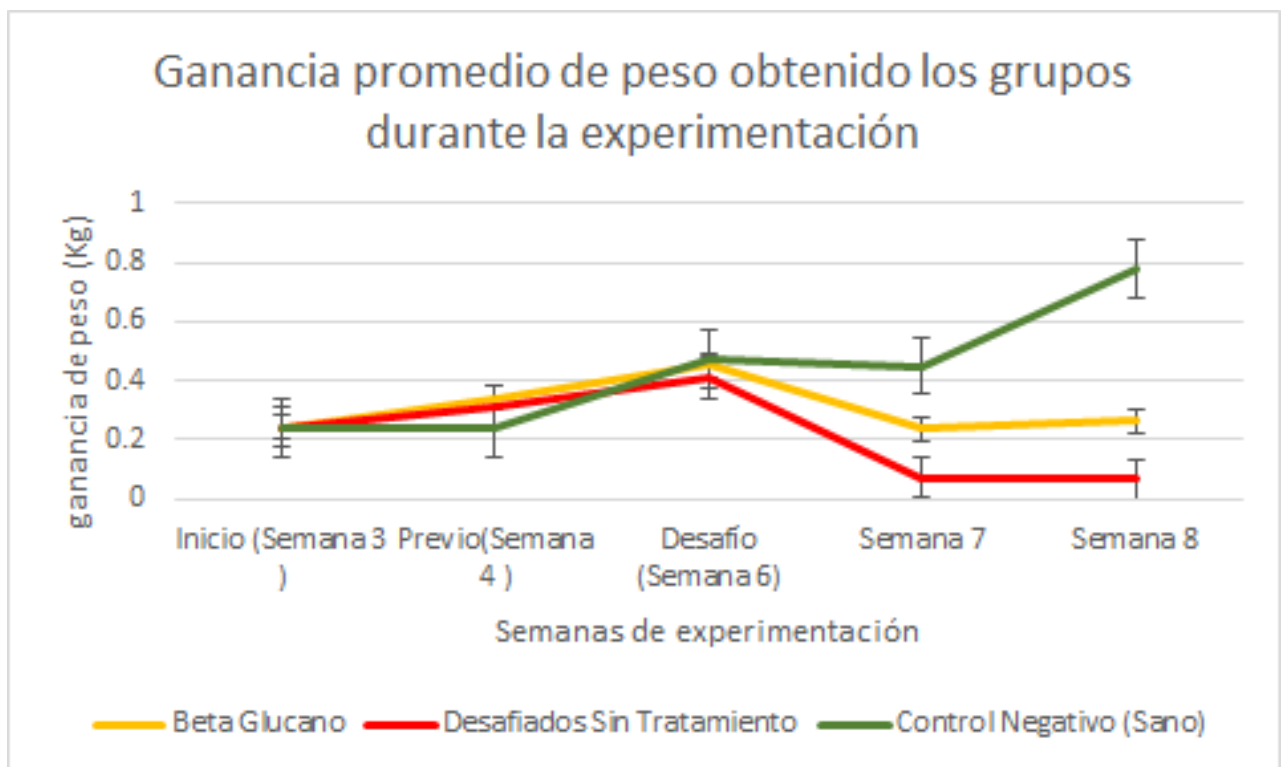
Imagen 3. Pulmón obtenido de uno de los cerdos pertenecientes al grupo desafiado con *Mycoplasma hyopneumoniae* y que recibió tratamiento con  $\beta$ -Glucano previo al desafío

En la gráfica 2 se realizó un promedio de los porcentajes obtenidos entre cada grupo. Para la determinación de los porcentajes se evalúa el área de los lóbulos y se obtienen los resultados. Al suministrar el probiótico previo al desafío se obtuvieron porcentajes de lesión menores al grupo que fue desafiado con *Mycoplasma hyopneumoniae* sin tratamiento; el grupo control negativo, al ser sanos no presentan ningún porcentaje de lesión.



**Gráfica 2. Porcentajes promedios obtenidos de cada grupo de acuerdo a la medición realizada donde se evalúa el área de los lóbulos y se determina el porcentaje de lesión producido**

En la gráfica tres se demuestra la ganancia de peso promedio obtenida semanalmente de cada uno de los grupos; al ser alimentados bajo las mismas condiciones y utilizando las mismas porciones del alimento. Después de la semana donde se lleva a cabo el desafío con *Mycoplasma hyopneumoniae* comienza la variación en la ganancia de peso; tanto los lechones del grupo desafiado sin tratamiento como los lechones que recibieron tratamiento con probióticos previo al desafío comienzan a presentar una disminución en la ganancia de peso, sin embargo, en las determinaciones finales existe una recuperación de la ganancia diaria de peso por parte del grupo que recibió tratamiento previo con el probiótico.



**Gráfica 3. Representación de ganancia de peso promedio por grupo durante las semanas de experimentación**



## Análisis de Resultados

Las estructuras de carbohidratos participan en papeles importantes en la potenciación de la inmunidad; los que presentan los mejores resultados son los glucanos ( $\beta$ -D-glucanos). Los probióticos que contienen  $\beta$ -Glucanos han sido investigados debido a las propiedades inmunomodulatorias; se reporta que  $\beta$ -Glucano es altamente fermentado por la microbiota intestinal que se encuentra en ciego y colon, y puede promover la tasa de crecimiento de microorganismos, así como la producción de ácido láctico. El Beta-glucano (también denominado  $\beta$  (1 $\rightarrow$ 3)(1 $\rightarrow$ 6)- $\beta$ -glucano) obtenido a partir de hongos y levaduras ha demostrado tener efectos benéficos al ser utilizados como suplementos alimenticios; dentro de los  $\beta$ -glucanos obtenidos a partir de microorganismos, el que se encuentra presente en la levadura *Saccharomyces cerevisiae* es la que mayores efectos benéficos produce (Arena, et al., 2014; Raa, 2015)

El Beta-glucano de las levaduras participa en el sistema inmune del hospedero activando tanto la inmunidad innata como la adaptativa. Permite la activación de los macrófagos actuando dentro de la inmunidad de tipo innata. En lechones que han recibido suplementación con Beta-glucano se ha demostrado la activación de macrófagos y neutrófilos; en otros estudios se han obtenido como resultados la proliferación de linfocitos, los cuales actúan dentro del sistema inmune de tipo adaptativo (Beart et al., 2015; Vetvicka y Oliviera, 2014; Wang et al., 2008).

Los lechones al presentar un sistema inmune inmaduro, son susceptibles a infecciones producidas por microorganismos patógenos; en estudios recientes donde de desafiaron lechones con rotavirus se obtuvieron resultados similares al poder protegerlos de manera significativa contra el patógeno (Chethan, et al., 2017)

El kit ELISA de detección de anticuerpos frente a *M. hyopneumoniae* permite una determinación rápida de la presencia de anticuerpos frente a *M. hyopneumoniae*, lo cual puede ser indicativo de exposición al agente.

De acuerdo a los resultados obtenidos en la gráfica 1 se evidencia la producción de anticuerpos durante las semanas de tratamiento y de seguimiento a los cerdos que se les dio tratamiento con  $\beta$ -Glucano; en ninguna de las etapas se logró determinar a los cerdos tanto con tratamiento y sin tratamiento como seropositivos, esto debido a que el cociente M/P que presentaron al realizar la determinación es menor a 0.40, valor que de acuerdo al inserto del kit comercial se considera el punto de corte para una muestra seropositiva; si se encuentra mayor a este, las muestras se consideran seropositivas.

Se observa la presencia mínima de anticuerpos desde la primera semana de experimentación, esto se fundamenta en la transmisión de anticuerpos maternos; se ha reportado que los anticuerpos maternos se pierden a la semana 10 de vida. La infección por *Mycoplasma hyopneumoniae* ocurre cuando descienden los anticuerpos maternos. La tasa de diseminación del patógeno se incrementa cuando se destetan los animales, se mezclan entre ellos y se trasladan a la engorda. Esto explica en parte el aumento en la seroprevalencia de los cerdos al aumentar la edad o al pasar de una etapa de producción a otra.

Entre los factores que influyen en la seroconversión se mencionan el manejo, condiciones de alojamiento, sistema de producción, tamaño de la población, higiene, mezcla de animales, edad de las cerdas, así como otras infecciones.

Los resultados obtenidos en la determinación de anticuerpos no concuerdan si se realiza la comparación con la disminución del porcentaje de lesión obtenido, esto fundamentado en que los probióticos promueven la producción y secreción de anticuerpos no-específicos útiles en diferentes tipos de infecciones de carácter bacteriano.; los mecanismos por los cuales se llegan a producir son todavía desconocidos, sin embargo los resultados fueron reportados en enfermedades intestinales(Wold, A., 2001); se puede asumir que presentan un mecanismo muy similar a la producción de anticuerpos contra *Mycoplasma hyopneumoniae*, debido a que las IgA son inmunoglobulinas que se encuentran en superficies mucosas. Aún con los resultados obtenidos y sin importar que no sean resultados positivos, se observa la cinética de los anticuerpos ya que al inicio lo que se detecta son anticuerpos maternos, descienden en la segunda semana debido a que se termina su tiempo de vida y nuevamente aumentan una semana después de que se realiza el desafío con el patógeno se puede asumir que presentan un mecanismo muy similar a la producción de anticuerpos contra *Mycoplasma hyopneumoniae*, debido a que las IgA son inmunoglobulinas que se encuentran en superficies mucosas. Sin embargo el efecto inmunomodulador de  $\beta$ -Glucano se encuentra en la producción de citocinas anti-inflamatorias.

Los glucanos ejercen actividades adyuvantes a través de su capacidad de unirse a receptores específicos de membrana, tales como CR-3 y Dectina-1, los cuales son expresados en la línea celular de monocitos y macrófagos, así como en otras células inmunocompetentes de presentación de antígeno, entre ellas encontramos a las células dendríticas. La unión de las moléculas de glucano a estos receptores resulta en la activación de una cascada de rutas que modulan la producción de citocinas proinflamatorias, al igual que de quimiocinas, induciendo a la presentación del antígeno y la coestimulación celular, lo cual desencadena la inmunidad humoral y celular. Los  $\beta$ -Glucanos se consideran como estimuladores no específicos de la inmunidad de tipo celular, principalmente en macrófagos, monocitos y neutrófilos; los efectos que producen se han reportado en repetidas ocasiones sin importar la vía de administración (Vetvicka, et al. 2014; Vetvicka V y Vetvickova J., 2008)

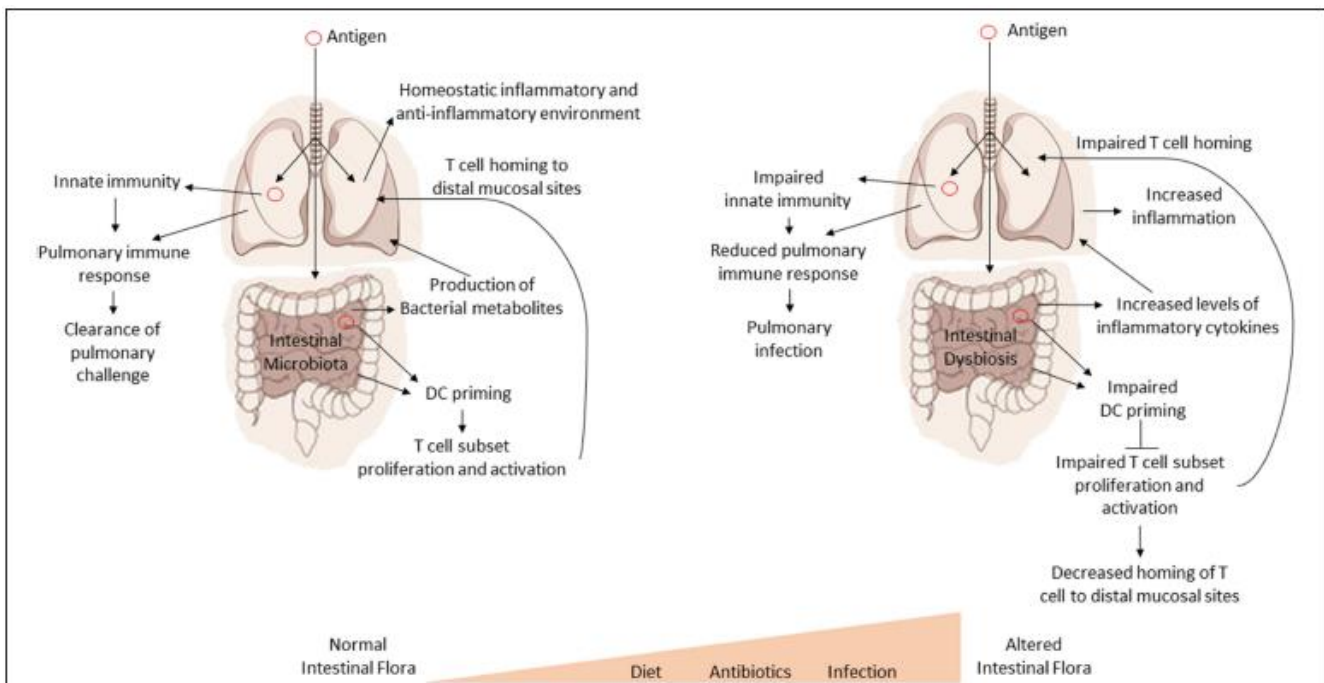
Se ha demostrado que dietas suplementadas con glucanos, regula parcialmente la síntesis de citocinas proinflamatorias TNF- $\alpha$  e IL-6, modulando la inmunidad; también regula el metabolismo de nutrientes, presentando afecciones en la tasa de crecimiento de bacterias patógenas. Los glucanos estimulan la producción de citocinas antiinflamatorias como la IL-10 inhibiendo la proliferación de células T así como la diferenciación funcional, incluyendo la secreción de citocinas de tipo TH1 y TH2. Los  $\beta$ -Glucanos son considerados como estimuladores no específicos de la inmunidad celular, particularmente en los macrófagos y su actividad fagocitaria, además se ha descrito que existe un incremento de IL-2. (Vetvicka, et al. 2014)

El mecanismo que se produce durante la infección aún se desconoce; lo que se sabe es que *Mycoplasma hyopneumoniae* induce a la respuesta inflamatoria donde se asocian citocinas tales como IL-1 $\beta$  e IL-6 (reportado en estudios in-vivo e in-vitro), y del Factor de Necrosis Tumoral Alfa (TNF- $\alpha$ ). (Damte, et al., 2014)

Las citocinas proinflamatorias se cree que juegan un papel importante en la sintomatología de la neumonía enzoótica porcina , causando una de las características principales de esta patología, en la que se encuentran un gran número de leucocitos en el tejido pulmonar, incluyendo la consolidación y hepatización del tejido dañado; además se descubrió que la producción de Óxido Nítrico (NO) es clave dentro del proceso inflamatorio, especialmente en las patologías producidas por *Mycoplasma hyopneumoniae* y sus lipopolisacáridos. (Damte, et al., 2014)

Los microorganismos comensales modulan la inmunidad del hospedero, no solamente del tracto intestinal sino de sitios distales también. La microbiota intestinal afecta la respuesta sistémica inmune debido a la modulación de diferentes vías de señalización clave, además de la sobreproducción de células T extraintestinales, la producción de ácidos grasos de cadena corta, y el control de la inflamación. (Samuelson, 2015). Fagundes et al. en 2012 mediante un experimento realizado con *K. pneumoniae* sugiere que la microbiota comensal mantiene las defensas del hospedero en contra de agentes infecciosos manteniendo la respuesta inflamatoria normal a patógenos pulmonares. En ratones se ha podido demostrar que existe una relación entre el tracto gastrointestinal y el tracto respiratorio; se sustenta debido a que han encontrado microorganismos similares en cavidad nasal y tracto gastrointestinal. Se describe que el tracto gastrointestinal se encontrará expuesto con el patógeno o antígeno introducido por el sistema respiratorio; este estudio sugiere que la mucosa del tracto gastrointestinal puede llegar a servir como sensor principal de antígenos y microorganismos del ambiente (Samuelson, et al., 2015).

Como se observa en la Imagen 4 los antígenos son procesados por las células dendríticas del tracto gastrointestinal. Las células dendríticas promueven la proliferación y expansión de varias células T en respuesta a los antígenos. Después, las células T se dirigen a los sitios de infección o donde se dió la exposición a los antígenos. Las condiciones óptimas inflamatorias/ no-inflamatorias y la producción de metabolitos bacterianos se ve afectada por la composición de la microbiota intestinal. Alteraciones en la microbiota intestinal una mala proliferación y expansión de grupos de células T, incrementando la inflamación, pérdida o desequilibrio en metabolitos bacterianos, los cuales pueden llegar a tener un impacto negativo en la salud y en la respuesta del sistema inmunológico (Samuelson, et al.,2015).



**Imagen 4. Modelo de la influencia regulatoria producida por la microbiota intestinal en la respuesta del sistema inmunológico.**

Se ha demostrado en experimentaciones con lechones donde se ha mantenido un buen funcionamiento de la microbiota intestinal una disminución de la severidad de las lesiones producidas por *Mycoplasma hyopneumoniae* después de 4 semanas de haber sido desafiados disminuyendo el porcentaje de lesión (Surendran, et al., 2019).

Familias de los Receptores Toll-Like (TLR) son expresadas en la presentación de antígeno y moléculas de patrón de reconocimiento de antígenos externos durante la respuesta inmune de tipo innata dentro del animal hospedero. Se ha demostrado por Muneta en 2003 que existe la presencia de TLR2 y TLR6 en macrófagos alveolares en porcinos; otros estudios han demostrado el reconocimiento de las lipoproteínas micoplasmicas por los receptores diméricos TLR2-TLR6 que se encuentran en los macrófagos alveolares porcinos. Se ha sugerido que la IL-1 receptor asociado al

complejo de cinasas, puede ser el encargado de desarrollar la síntesis de citocinas inflamatorias tales como TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  e IL-6 (Damte, et al., 2014).

Se ha descrito que diferentes cepas de *S. cerevisiae* presentan diferentes actividades inmunomoduladoras; *S. cerevisiae* UFMG A-905 demostró la capacidad de reducir las propiedades inflamatorias, así como la modulación de los niveles de citocinas IL-6, TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$  e IL-10; esto se debe a la capacidad de la modulación de la señalización de rutas responsables de la expresión de citocinas de tipo inflamatorio, tal como NF- $\kappa$ B, AP-1 y MAPK. *S. cerevisiae* 982, el cual fue aislado de queso feta presentó actividad inmunomoduladora en intestino de ratón, estimulando la secreción de IgA, TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$ , IL-5, IL-6, IL-10 e IL-12 dependientes de la expresión de receptores Toll Like TLR-2, TLR-4, TLR-6 y TLR-9; aparentemente esta cepa favorece la respuesta de tipo Th1. Otra cepa de *S. cerevisiae* LV02/CNCM I-3856, inhibe mediadores inflamatorios, productores de IL-6 e IL-8, los cuales son inducidos por infecciones bacterianas. (Palma, et al., 2015)

Alteraciones de la homeostasis intestinal ya sea por alteraciones de tipo genético o alteraciones de la microflora podrían tener efectos drásticos en la respuesta inmune a nivel sistémico (incluso a nivel pulmonar). Los beneficios de los probióticos en el mantenimiento y la regulación de la salud pulmonar ha sido descrito en diferentes estudios. Uno de los primeros estudios indica que la microflora intestinal puede llegar a influenciar la salud pulmonar, esto demostrado en estudios con ratones obesos; encontraron que la microbiota gastrointestinal de los ratones, jugaron un papel importante en el control de la inflamación pulmonar. Se demostró la presencia de un aumento de mRNA de citocinas y otras moléculas de carácter inmunológico, los resultados obtenidos sugieren que algunos probióticos pueden llegar a estimular la respuesta inmune aumentando las defensas del hospedero mediante el aumento de la señalización inflamatoria. Los mecanismos por los cuales la microbiota intestinal llega a mejorar la inmunidad a nivel sistémico, no se ha entendido completamente, sin embargo, varias rutas de señalización pueden estar incluidas dentro del proceso. El sistema inmune intestinal comienza con la señalización derivada de las interacciones que existen entre la microbiota intestinal y los patrones de reconocimiento de la inmunidad innata (como lo son los TLR). Los TLR reconocen componentes microbianos y dispara la respuesta inflamatoria. Distintos productos bacterianos, como los polisacáridos, ácido lipoteicoico, peptidoglicanos, entre otros, estimulan la señalización de TLRs. Se produce un efecto en secuencia, donde se lleva a cabo la activación del factor de transcripción NF- $\kappa$ B, el cual es requerido para la expresión de diferentes genes que se encargan de la regulación de la inmunidad innata, así como de la inflamación. La microbiota intestinal es crucial para mantener normal la señalización de TLRs. (Samuelson, et. al., 2015).

Se reporta que  $\beta$ -glucano llega a aumentar la producción de IFN- $\gamma$  durante el desarrollo de la respuesta adaptativa. El  $\beta$ -glucano estimula principalmente la respuesta inmune de tipo 1. Se menciona por Brown y Gordon (2003) que el efecto producido por  $\beta$ -glucano es mediado por unión a receptores específicos, más que por fagocitosis. La actividad del  $\beta$ -glucano, se ha reportado en monocitos, macrófagos, neutrófilos, eosinófilos y células NK; también en células no-inmunes como células endoteliales, células epiteliales alveolares y fibroblastos. Se ha encontrado que los Glucanos tienen receptores con patrón de reconocimiento (Scavenger receptor) y llegan a modular la inmunidad innata mediante la activación de macrófagos. Una gran variedad de receptores moleculares se unen a los  $\beta$ -glucanos, incluyendo la dectina-1 y CR3 (una integrina heterodimérica), receptor el cual se expresa en células de tipo NK y células mieloides. Dentro de este tipo de células, las únicas que secretan IFN- $\gamma$  son las células NK, de acuerdo a una determinación realizada mediante el ensayo ELISPOT (Enzyme-Linked Immunospot Assay). Los mecanismos moleculares de la función de  $\beta$ -glucanos se desconocen. Los  $\beta$ -glucanos activan significativamente el Factor Nuclear- $\kappa$ B en macrófagos; además, el Factor Nuclear- $\kappa$ B está involucrado en la inducción de TNF- $\alpha$  por los  $\beta$ -(1 $\rightarrow$ 3)-glucanos en macrófagos. Además, la expresión de dectina-1 promueve a los receptores TLR, esto debido a la activación del Factor Nuclear- $\kappa$ B en macrófagos que contengan partículas de  $\beta$ -glucano. La dectina-1 y los TLRs son sinérgicos en la mediación de producción de citocinas como IL-12 y TNF- $\alpha$  tanto en macrófagos como en células dendríticas. (Xiao, et al.,2004)

Estudios previos han demostrado que los  $\beta$ -glucanos obtenidos a partir de *S. cerevisiae* puede llegar a estimular a los macrófagos e inducir la producción de citocinas, tales como IL-12, IL-2 e IL-10, y estas pueden encargarse de estimular la inmunidad adaptativa. de igual manera se menciona que puede llegar a regular los niveles producidos de TNF- $\alpha$  y esta regulación es proporcional a la dosis que se suministre, al igual que IFN- $\gamma$ . Esto sugiere que los  $\beta$ -glucanos funcionan como adyuvantes para la potenciación de una respuesta inmune de tipo Th1. (Budak,et al., 2008)

Se han realizado estudios similares en infecciones virales, en las que al suministrar  $\beta$ -glucano se aumenta la producción de IFN- $\gamma$  permitiendo una mejor eliminación del patógeno. Estos resultados pueden tener similitudes al tratarse de una infección con *Mycoplasma hyopneumoniae* debido a que en los dos casos se produce una respuesta inmune de tipo celular.

Se ha demostrado que los  $\beta$ -glucanos utilizados como suplementación diaria en enfermedades hepáticas porcinas producidas experimentalmente por bacterias ha tenido como resultado la disminución de la producción de citocinas tales como IL-6 e IL-10 al igual que la disminución de la colonización bacteriana. Esta investigación permite determinar que la disminución de estas citocinas impide la consolidación y

hepatización de las lesiones pulmonares de los cerdos al recibir tratamiento previo con  $\beta$ -glucano (Rayan, M., et al. 2012)

En resultados previamente obtenidos, se utilizaron dosis de 5 $\mu$ g/mL y se determinó el efecto que tiene como estimulante de este tipo de citocinas (Budak, et al., 2008); es por este hallazgo que se puede determinar que los sueros utilizados al estar en condiciones inadecuadas de almacenamiento, se perdió la estabilidad de las mismas.

El  $\beta$ -D-glucano, sin importar que sea particulado o soluble, desencadena funciones inmunes anti-infectivas, anti-tumorales e inmunomoduladoras. Pueden llegar a ser utilizados en distintos tratamientos, no solo para humanos, también para invertebrados, roedores, peces y animales de granja debido a su gran capacidad de modular el sistema inmune. (Majtan, J. y Jesenak, M., 2018)

El  $\beta$ -glucano presenta actividad pluripotencial, como antioxidante, anti-inflamatorio, y efectos regenerativos en células. Algunos  $\beta$ -glucanos poseen propiedades anti-infectivas y está demostrado una potencial actividad antibacteriana en contra de un amplio espectro de bacterias Gram positivas y Gram negativas. El  $\beta$ -Glucano puede ser un agente que permita la recuperación de lesiones. La respuesta que produce  $\beta$ -glucano se debe principalmente a la interacción que existe con los receptores de membrana. Existen dos posibles modelos que permitan explicar el proceso de sanación de una lesión; la primera manifiesta por activación indirecta por varias citocinas de los macrófagos. Cuando se liberan factores de crecimiento producidos por macrófagos activados, promueven la proliferación celular, angiogénesis y reepitelización. Se ha propuesto que los  $\beta$ -glucanos aceleran el proceso de sanación en heridas de carácter crónico y de carácter agudo. Las lesiones crónicas son caracterizadas por una prolongada fase inflamatoria donde macrófagos del tejido granular, después de ser estimulados por  $\beta$ -glucanos, actúan como fuente de producción de factores de crecimiento y citocinas pro-inflamatorias (IL-6, IL-1 $\beta$  and TNF $\alpha$ ); este evento pro-inflamatorio se encuentra mediado por el receptor Dectina-1 (Majtan, J. y Jesenak, M., 2018)

Los  $\beta$ -Glucanos han demostrado de manera in vitro actividad antimicrobiana; esto se demostró en especies bacterianas en las que se incluye *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Staphylococcus aureus*, o indirectamente estimulando la actividad fagocítica de los macrófagos cuando existe un desafío bacteriano. En un estudio en el cual se utilizaron hojuelas  $\beta$ -glucano demostró su efecto en contra de *Escherichia coli* y *Bacillus subtilis*. Se obtuvo un resultado de un 35% de inhibición de crecimiento de dichas bacterias; otro tipo de  $\beta$ -glucano (catiónico) causó el 80% de inhibición de los dos tipos de bacteria. (Majtan, J. y Jesenak, M., 2018)

Los resultados obtenidos en humano y ratón, demuestran que el  $\beta$ -glucano induce la producción de TNF- $\alpha$  en macrófagos dañados, esto por vía de activación de vías de

señalización de Dectina-1 y TLR2. también se reporta la inducción de la fosforilación en el factor estimulante de colonias de macrófagos (macrophage-colony stimulating factor). En estudios realizados en ulceraciones causadas por diabetes, donde se utilizó un grupo con ulceraciones administradas con un placebo y un grupo con ulceraciones y recibiendo tratamiento de  $\beta$ -glucano se reporta un mayor porcentaje de disminución de lesión utilizando  $\beta$ -glucano, la lesión disminuyó en un 87%, mientras que el grupo que no recibió tratamiento disminuyó en un 56%; esto fue utilizado en tratamientos tópicos y sistémicos, teniendo mejores resultados en tratamientos sistémicos. (Majtan, J. y Jesenak, M., 2018)

Mediante la literatura se puede basar los resultados obtenidos en los promedios del grupo desafiados con *Mycoplasma hyopneumoniae* sin tratamiento y el grupo desafiado con *M. hyopneumoniae*, el cual recibió tratamiento con  $\beta$ -glucano. En este experimento se observa una disminución promedio del 96%, sin embargo, la población utilizada es muy pequeña para determinar completamente el efecto que presenta recibir un tratamiento con  $\beta$ -glucano, al igual que realizar cortes histológicos, los cuales permitan una mejor observación de las lesiones y de la recuperación de tejido sano.

En estudios donde se indujo una endotoxemia con lipopolisacáridos a ratas y se les suministró tratamiento con  $\beta$ -glucano, se realizaron cortes histológicos en los que se determinó que el tratamiento ejerce un efecto protector de lesiones pulmonares, y permite una mejor recuperación del tejido dañado, destacando que el grupo que recibió tratamiento disminuyó su mortalidad y el daño, evaluado por histopatología. Se demostró una disminución en la infiltración de leucocitos al sitio donde se encontraba el daño y la disminución de producción de proteína c reactiva. (Iraz, et al., 2015)

En infecciones producidas por *Mycoplasma hyopneumoniae* se reporta que uno de los síntomas característicos es la poca ganancia de peso debido a la pérdida de apetito, esto se produce debido al estrés inflamatorio; se ha reportado que en infecciones de *Mycoplasma hyopneumoniae*, el consumo de alimento se reduce debido a la presencia de citocinas tales como IL-1 $\beta$ , IL-6 y TNF- $\alpha$ ; la disminución de peso es directamente proporcional a las condiciones en las que se encuentren los lechones enfermos, esto se demostró en lechones que presentaron una co-infección por *Pasteurella multocida*, donde la ganancia de peso obtenida fue menor a los lechones que solo se encontraban infectados con *M. hyopneumoniae*. (Helm, et al., 2018)

Dentro del experimento se observa que a partir de realizar el desafío con *Mycoplasma hyopneumoniae*, comienza la disminución en la ganancia de peso; a partir de la siguiente medición (semana 7) se presenta una recuperación en la ganancia de peso promedio por parte del grupo desafiado con *Mycoplasma hyopneumoniae* y que recibió tratamiento con  $\beta$ -glucano, esto se asume que debe ser resultado de la



disminución en la producción de citocinas tales como TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  y IL-6 de acuerdo a lo reportado en la literatura. Se requiere en futuras investigaciones la prolongación del tiempo de experimentación con el fin de determinar si en algún momento los lechones desafiados y que reciban tratamiento pudieran llegar a recuperar el apetito de tal manera que los pesos de estos y del grupo sano sean muy similares.

Los niveles de citocinas y quimiocinas pueden ser alterados incluso por el comportamiento, incluyendo el estrés, actividad física, fármacos, actividad física, técnica de recolección de las muestras, condiciones de almacenamiento y de procesamiento de muestras sanguíneas. (Aziz, et al., 2016)

## Conclusiones

Los  $\beta$ -glucanos obtenidos de *S. cerevisiae* presentaron efectos positivos sobre el sistema inmune de los lechones desafiados con *M. hyopneumoniae*. El  $\beta$ -glucano al ser utilizado como agente protector tiene efectos dentro de la microbiota intestinal, al igual que en procesos de inmunidad celular, la cual permite al organismo del hospedero una mejor recuperación de lesiones producidas por el patógeno y la ganancia de peso diaria, principalmente debido a la regulación de citocinas como IL-12, TNF- $\alpha$  e IFN- $\gamma$ , las cuales desarrollan estrés metabólico durante la infección.

Al realizar la determinación del porcentaje de lesión en cerdos con tratamiento de  $\beta$ -glucano comparado con el grupo que no recibió tratamiento y solo fue desafiado con *M. hyopneumoniae*, donde se puede observar una disminución importante de la lesión; la determinación de citocinas no puede respaldar los resultados obtenidos debido a que durante la experimentación dentro del laboratorio perdieron las condiciones adecuadas de almacenamiento. Sin embargo, la literatura permitió plantear de manera teórica los resultados que se esperaban tener y en base a los resultados obtenidos deberían de ser similares a los reportados en la literatura.

La recuperación de la ganancia de peso reportada permite evidenciar que el beta glucano permite la disminución de la producción de citocinas productoras del estrés inflamatorio, permitiendo así la recuperación de apetito y la disminución de inversión de gastos referentes a la alimentación.

El uso del  $\beta$ -glucano como agente protector dentro de la industria porcícola permitirá el ahorro de grandes cantidades de dinero si se administra de manera adecuada, teniendo como resultado una disminución de inversión en medicamentos y vacunas. Por otra parte, se impide en cierta manera la resistencia a antibióticos debido a que no se requerirá de un consumo tan frecuente.

Los datos no resultan ser del todo concluyentes, pues aún no se sabe cómo será su respuesta a largo plazo, es por esto que en investigaciones futuras se deberá realizar de manera adecuada las determinaciones de citocinas, las cuales permitirán evaluar los resultados de manera cuantitativa y así evaluar completamente el efecto del  $\beta$ -glucano al ser utilizado como probiótico, tomando en cuenta que aún no se pueden sustituir los tratamientos con antibióticos; al ser adyuvantes y administrarse de manera simultánea se obtendrán mejores resultados para combatir la infección.

A pesar de una importante disminución de la lesión, se requieren estudios que demuestren la eliminación completa del patógeno, ya que sin importar que la lesión disminuye, la lesión y la infección crónica persiste.

## Bibliografía

Abbas A., Lichtman A., Pillai S. *Inmunología Celular y Molecular*. ed. Elsevier Saunders 7 ed. 2012.

Ameri, M., Zhou, E. y Hsu, W.(2006). Western blot immunoassay as a confirmatory test for the presence of anti-*Mycoplasma hyopneumoniae* antibodies in swine serum. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*. 18: 198–201

Arena, M., Caggianiello, G., Fiocco, D., Russo, P., Torelli, M., Spano, G. y Capozzi, V. (2014). Barley B-Glucans-Containing Food Enhances Probiotic Performances of Beneficial Bacteria. *International Journal of Molecular Sciences*; 15: 3025-3039

Azevedo, M., Yuan, L., Pouly, S., Gonzales, A., Jeong, K., Nguyen, T., y Saif, L.(2006).Cytokine Responses in Gnotobiotic Pigs after Infection with Virulent or Attenuated Human Rotavirus. *American Society for Microbiology*. 80 (1): 372-382

Aziz, N., Detels, R., Quint, J., Li, Q., Gjertson, D. y Butch, A.(2016). Stability Of Cytokines, Chemokines and soluble activation markers in unprocessed blood stored under different conditions. *HHS Public Access*. 84: 17-24

Beart, K., Sonck, E., Goddeeris, B., Devriendt, B. y E. Cox.(2015). Cell type-specific differences in  $\beta$ -glucan recognition and signaling in porcine innate immune cells. *Dev. Comp. Immunol*. 48:192-203

Bellisle, F., Diplock, A. y Hornstra, G.(1998). Functional food Science in Europe. *J Nutr*. 80 (1): S3-S4

Belloy, L., Vilei, E., Giacometti, M., & Frey, J. (2003). Characterization of LppS, an adhesin of *Mycoplasma conjunctivae*. *Microbiology*. 149:185–193.

Bogema, D., Deutscher, A., Woolley, L., Seymour, L., Raymond, B., Tacchi, J., Djordjevic, S. (2012). Characterization of cleavage events in the multifunctional cilium adhesin Mhp684 (P146) reveals a mechanism by which *Mycoplasma hyopneumoniae* regulates surface topography. *MBio*. 3: e00282–11.

Brown, G.(2006). Dectin-1: a signalling non-TLR pattern-recognition receptor. *Nat Rev Immunol*; 6: 33-43.

Budak, F., Goral, G. y Barbaros, H.(2008). *Saccharomyces cerevisiae* Beta-Glucan induces Interferon Gamma Production in human T cells via IL-12. *Uludag University School of Medicine*. 13: 21-26

Buenfil, J., Álvarez, M., y Correa, J.(2010). Serological profile of antibodies against *Mycoplasma hyopneumoniae* in growing and fattening pigs in a multi-site farm in

Yucatan, Mexico. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Universidad Autónoma de Yucatán. 26 (2):211-214

Călugăru, A., Cremer, L., Lupu, A., Bădulescu, M., Apetrei, N., Moscovici, M., et al.(2009). Recognition and modulation of Dectin-1 and TLR-2 receptors by curdlan derivatives and purified natural extracts. Roum Arch Microbiol Immunol; 68(3):119-124.

Carlile, M., et al.(2001). The Fungi. 2<sup>a</sup> ed. Academic Press, San Diego, p 70.

Chethan, G., Garkhal, J., Sircar, S., Malik, Y., Mukherjee, R., Sahoo, N., Agarwal, R y U. De.(2017).Immunomodulatory potential of  $\beta$ -glucans as supportive treatment in porcine rotavirus enteritis. Vet. Immunol. Immunopathol. 191: 36-43

Collins, M. y Gibson, G.(1999). Probiotic, Prebiotic and Symbiotic: approaching for modulating the microbial ecology of the gut. Am. J. Clin. Nutr; 69 (1): 1052s- 1057s

Damte D., Lee S., Hwang M., Gebru E., Choi M., Lee J., Cheng H. y Park S., (2011). Inflammatory responses to *Mycoplasma hyopneumoniae* in murine alveolar macrophage cell lines. N. Z. Vet. J. 59: 185–190.

Damte, D., Lee, S.,Hwang, M. Gebru, E., Choi, M. Lee, J. Cheng, H. y Park, S.(2014) Inflammatory responses to *Mycoplasma hyopneumoniae* in murine alveolar macrophage cell lines. New Zeland Veterinary Journal, 59 (4); 185-190.

DeSimone, C., Rosati, E. y Moretti, S.(1991). Probiotics and simulation of the immune response. J. Clin. Nutr. 45: 32-34

Deutscher, A., Tacchi, J., Minion, F., Padula, M., Crossett, B., Bogema, D., Jenkins, C., Kuit, T., Walker, M., y Djordjevic, S.(2012). *Mycoplasma hyopneumoniae* surface proteins Mhp385 and Mhp384 bind host cilia and glycosaminoglycans and are endoproteolytically processed by proteases that recognize different cleavage motifs. J. Prot. Res. 11, 1924–1936.

Doménech A., Gibello A., Collado MV., Porrás R., Mar BM. 2008. The innate immune system II: First Response Against infection. Rev Com Cien Vet. 2: 17-30.

Escalante. A.(2001).El potencial de manipulación de la flora intestinal por medios dietéticos sobre la salud humana. Enferm. Infec. Microbiol. 21: 106-114

Espigares, D.(2016). *Mycoplasma hyopneumoniae*. Ceva Salud Animal. Obtenido de: <http://www.elsitioporcino.com/articles/2726/mycoplasma-hyopneumoniae/> . Revisado el 05/07/2019.

Feng Z., Bai Y., Yao J., Pharr T., Wan X., Xiao S., Chi L., Gan Y., Wang H., Wei Y., Liu M., Xionh Q., Bai F., Li B., Wu X. y Shao G. 2014. Use of serological and mucosal immune responses to *Mycoplasma hyopneumoniae* antigens P97R1, P46 and P36 in the diagnosis of infection. *The Veterinary Journal* 202: 128–133.

Fragoso, J., Vargas, G., Jiménez, S., Reyes, O. y Ramírez, J.(2014). El factor de necrosis tumoral alfa en las enfermedades autoinmunes: biología molecular y genética. *Gaceta médica de México*. 150: 334-344.

Gibson, G. y Roberfroid, M.(1995). Dietary modulation of the human colonic microbiota: introducing the concept of probiotics. *J. Nutr*; 125: 1401-1412

Green, G.(1965). The influence of bacterial species on pulmonary resistance to infection of mice, subjected to hypoxia, cold stress, and ethanol intoxication. *Br. J. Exp. Path.* 46: 360.

Green, G.(1971) In defence of the lung. *Am. Rev. Resp. Dis.* 102: 691.

Goedbloed, D., van Hooft, P., Lutz, W., Megens, H., van Wieren, S., Ydenberg, R., & Prins, H. (2015). Increased *Mycoplasma hyopneumoniae* disease prevalence in domestic hybrids among free living wild boar. *EcoHealth*,12: 571–579.

Golubev, W.(2006).Antagonistic interactions among yeasts, in *Biodiversity and Ecophysiology of Yeasts*, eds. G. Péter and C. Rosa (Berlin: Springer), 197–219.

Harada, K. Itashiki, Y. Takenawa, T. y Ueyama, Y.(2010) Effects of Lentinan alone and in combination with fluoropyrimidine anticancer agent on growth of human oral squamous cell carcinoma in vitro and in vivo. *Internat J Oncol*; 37(3): 623-631.

Hatoum, R., Labrie, S. y Fliss, I. (2012). Antimicrobial and probiotic properties of yeasts: from fundamental to novel applications . *Université Laval au Québec*; 421 (3): 1-12.

Hatch, T. (1961). Distribution and deposition of inhaled particles in respiratory tract. *Bact. Rev.* 25: 273.

Helm, E., Outhouse, A., Schwartz, K., Dekkers, J., Lonergan, S., Rauw, W., y Gabler, N.(2018). Impact of *Mycoplasma hyopneumoniae* and *Lawsonia intracellularis* on the performance of pigs divergently selected for feed efficiency. Iowa State University. :1-23

Holst, S., Yeske, P., y 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: 321– 330.

Iraz, M., Iraz, M., Esreflogu, M. y Aydin, M.(2015). Protective effect of  $\beta$ -glucan on acute lung injury induced by lipopolysaccharide in rats. Turkish Journal of Medical Sciences. 45: 261-267

Jamas, S. y Ostroff, G.(1996). Method for immune system activation by administration of a beta(1-3) glucan which is produced by *Saccharomyces cerevisiae* strain R4. US Patent; 5: 504-579.

Janeway CA Jr, Travers P, Walport M. 2001 . Immunobiology: The Immune System in Health and Disease. 5th edition. New York: Garland Science.

Kournikakis, B., Mandeville, R., Brousseau, P. y Ostroff, G.(2003) Anthrax-protective effects of yeast beta 1,3 glucans. Med Gen Med; 5(1).

Lebron, F., Vassallo, R., Puri, V. y Limper, A.(2003).*Pneumocystis carinii* cell wall beta-glucans initiate macrophage inflammatory responses through NF-kappaB activation. J Biol Chem; 278: 25001-25008.

Liu, Y., Shi, W., Zhou, E., Wang, S., Hu, S., Cai, X., Rong, F., Wu, J., Xu, M., Xu , M. y Li, L.(2010). Dynamic changes in inflammatory cytokines in pigs infected with highly pathogenic porcine reproductive and respiratory syndrome virus. American Society for Microbiology. 17 (9): 1439-144.

Lobo, E.(2005). *Mycoplasma hyopneumoniae* y su relación con los procesos respiratorios del cerdo. Revista electrónica de Veterinaria; 10 (5): 1-8

Lorenzo, H., Quesada, O., Assunção, P., Castro, A., & Rodríguez, F. (2006).Cytokine expression in porcine lungs experimentally infected with *Mycoplasma hyopneumoniae*. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 109: 199– 207

Lozano,J.(2002). Probióticos: Lo favorable: Alimentos probióticos. Obtenido de: <http://www.murciaopina.org/modules.php>. Revisado el: 23/09/2019

Luehrs, A., Siegenthaler, S., Grützner, N., Beilage, E., Kuhnert, P. y Nauthes, H. (2017). Occurrence of *Mycoplasma hyorhinis* infections in fattening pigs and

association with clinical signs and pathological lesions of Enzootic Pneumonia. Elsevier. 203: 1-5

Maes, D., Verdonck, M., Deluyker, H., de Kruif, A.(1996). Enzootic pneumonia in pigs. Veterinary Quarterly. 18: 104–109.

Maes, D., Sibila, M., Kuhnert, P., Segalés, J., Haesebrouck, F. y Pieters, M.(2017). Update on *Mycoplasma hyopneumoniae* infections in pigs: Knowledge gaps for improved disease control. Blackwell Verlag GmbH; 65 (1): 110-124.

Majtan, J. y Jesenak, M.(2018).  $\beta$ -Glucans: Multi-Functional Modulator of Wound Healing. MDPI. 23 (806): 1-15

Mata, D., y Hernández, R.(2008). Interferón gamma: aspectos básicos, importancia clínica y usos terapéuticos. Rincón del residente. 60 (5): 421-431

Palma, M., Zamith, D., Martins, F., Bozza, F., Nimrichter, L., Montero, M., Marques, E., y Douradina, B.(2015). Probiotic *Saccharomyces Cerevisiae* strains as biotherapeutic tools: Is there room for improvement?. Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 99: 6563-6570

Pijoan, C. (2003). Neumonía Enzootica de los cerdos. Instituto Nacional de Investigaciones Pecuarias. Obtenido de: <http://www.fmvz.unam.mx/fmvz/cienciavet/revistas/CVvol1/CV1v1c03.pdf> . Revisado el 06/07/2019.

Pizarro, S., Ronco, A. y Gotteland, M.(2014).  $\beta$ -glucanos: ¿Qué tipos existen y cuáles son sus beneficios en la salud?. Rev. chil. nutr.; 41 (4): 439-446

Raa, J. (2015). Immune modulation by non-digestible and non-absorbable beta-1,3,1,6-glucan. Microb. Ecol. Health Dis. 26: 27824

Rayan, M., Collins, B., O'Doherty, J., y Sweeney, T.(2012). Effects of dietary  $\beta$ -glucans supplementation on cytokine expression in porcine liver. American Society of Animal Science. 90: 40-42

Reyes, A., Ortiz, A., Juárez, M., Guevara, J., Córdova, A. (2018). Comportamiento de la porcicultura mexicana de los años 1970 a 2017. Una revisión documental sobre su desempeño. Obtenido de: <https://www.researchgate.net/publication/325896566> Comportamiento de la porcicultura mexicana de los años 1970 a 2017 Una revisión documental sobre su desempeño Revisado el: 13/12/20.

Roberfroid, M.(2000). Probiotics and Prebiotics: Are they functional Food?. Am. J. Clin. Nutr; 71(1): 406s-409s

Roberfroid, M.(1996). Prebiotics and Symbiotics: concepts and nutritional properties. Br. J. Nutr. 80, (2): 197-s202

Samuelson, D., Welsh, D. y Shellito, J.(2015) Regulation of lung immunity and host defense by the intestinal microbiota. Louisiana State University. 6(1085): 1-14

Sánchez, R., Sánchez, E., y Rodríguez, N.(2001). Interleucina-12 VS. Enfermedades infecciosas. SciELO. 40 (2).

Schrezeimeir, J., De Vrese, M.(2001). Probiotic, Prebiotic and Symbiotic- approaching a definition. Am. J. Clin. Nutr; 73: 361s-364s

Sheldrake, R., Gardner, I., Saunders, M., y Romalis, L.(1990). Serum antibody response to *Mycoplasma hyopneumoniae* measured by enzyme-linked immunosorbent assay after experimental and natural infection of pigs. Australian Veterinary Journal. 67: 39–42

Sibila, M., Pieters, M., Molitor, T., Maes, D., Haesebrouck, F., Segalés, J.(2009) Current Perspectives on the diagnosis and epidemiology of *Mycoplasma hyopneumoniae* infection. The Veterinary Journal. 181: 221-231

Simonatto, S., Marchioro, S., Maes, D., y Dellagostin, O.(2013) *Mycoplasma hyopneumoniae*: From disease to vaccine development. Elsevier. 165: 234-242

Suzuki, C., Ando, Y., y Machida, S. (2001). Interaction of SMKT, a killer toxin produced by *Pichia farinosa*, with the yeast cell membranes. Yeast; 8: 1471–1478.

Surendran, M., Eucker, T., Martinson, B., Neubauer, A., Victoria, J., Nichollson, B., Pieters, M.(2019). Influence of pig gut microbiota on *Mycoplasma hyopneumoniae* susceptibility. Veterinary Research; 50: 86

Sweeney, T., Collins, C., Reilly, P., Pierce, K., Ryan, M. y O'Doherty, J.(2012)Effect of purified  $\beta$ -glucans derived from *Laminaria digitata*, *Laminaria hyperborea* and *Saccharomyces cerevisiae* on piglet performance, selected bacterial populations, volatile fatty acids and pro-inflammatory cytokines in the gastrointestinal tract of pigs. British journal of nutrition; 108: 1226-1234

Tavío M., Poveda C., Assunção P., Ramírez A., Poveda J.(2014).In vitro activity of tylvalosin against Spanish field strains of *Mycoplasma hyopneumoniae*. Veterinary Record; 175: 539.



Vega, A., Mendoza, S., Ciprian, A., Barcenas, M., Hernández, J., García, A., y Solorio, S.(2017) Efecto de dos prebióticos en la respuesta inmune en cerdos vacunados y desafiados con *Mycoplasma hyopneumoniae*. Universidad Nacional Autónoma de México

Vetvicka V y Vetvickova J.(2008). A comparison of injected and orally administered  $\beta$ -glucans. J Am Nutraceut Assoc; 11: 42-9.

Vetvicka, V., y Oliveira, C.(2014)  $\beta(1-3)(1-6)$ -D-glucans modulate immune status in pigs: potential importance for efficiency of commercial farming. Annals of Translational Medicine; 2 (2): 1-6

Vetvicka, V., Vannucci, L., y Sima, P.(2014) The Effects of  $\beta$ -Glucan on Pig growth and immunity. The Open Biochemistry Journal; 8: 89-93

Volman, J., Ramakers, J. y Plat, J.(2008) Dietary modulation of immune function by  $\beta$ -glucans. Physiology Amp Behavior; 94(2): 276-84.

Wang Y, Zhang L, Li Y, Hou X y Zeng F.(2004) Correlation of structure to antitumor activities of five derivatives of a  $\beta$ -glucan from *Poria cocos sclerotium*. Carbohydrate Res; 339(15): 2567-2574.

Wang, Z., Guo, Y., Yuan, J. y B. Zhang.(2008).Effect of dietary  $\beta$ -1,3/1,6-glucan supplementation on growth performance, immune response and plasma prostaglandin E2, growth hormone and ghrelin in weanling piglets. Asian-Aust. J. Anim. Sci. 21: 707-714

West, N., Horn, P., Pyne, D., Gebski, V., Lahtinen, S., Frick, P., y Cripps, A.(2012). Probiotic supplementation for respiratory and gastrointestinal illness symptoms in healthy physically active individuals. Clin. Nutrition. 33(4): 581-587.

Wold, A.(2001). Immune effects of probiotics. Scandinavian Journal of Nutrition. 45: 76-85

Woolley, L., Fell, S., Djordjevic, S., Eamens, G., & Jenkins, C. (2013). Plasmin activity in the porcine airways is enhanced during experimental infection with *Mycoplasma hyopneumoniae*, is positively correlated with proinflammatory cytokine levels and is ameliorated by vaccination. Veterinary Microbiology, 164: 60–66.

Xu X, Yasuda M, Mizuno M y Ashida H.(2012).  $\beta$ -Glucan from *Saccharomyces cerevisiae* reduces lipopolysaccharide-induced inflammatory responses in RAW264.7 macrophages. Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects; 1820 (10): 1656-1663.

Xiao, Z., Trincado, C., Murtaugh, M.(2004) B-glucan enhancement of T cell IFN- $\gamma$  response in swine. Elsevier. 102: 315-320

Young, T., y Yagiu, M. (1978). A comparison of the killer character in different yeasts and its classification. *Antonie Van Leeuwenhoek* 44, 59–77

Zhu, F., Du, B. y B. Xu (2016). A critical review on production and industrial applications of betaglucans. *Food Hydrocoll*; 52: 275-288

Zhou, L., Zhang, Q., Zhang, Y., Liu, J. y Cao, Y.(2009) The shiitake mushroom-derived immuno-stimulant lentinan protects against murine malaria blood-stage infection by evoking adaptive immune-responses. *Internat Immunopharmacol*; 9(4): 455-462.