

01672

2/29.



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

DIVISION DE ESTUDIOS DE POSGRADO E INVESTIGACION
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

Estudio Seroepidemiológico en un Sistema
Múltiple de Producción Porcina en tres
Sitios para Evaluar Vacunación y Segrega-
ción para el Control y Posible Eliminación
de Neumonía Enzoótica

T E S I S

Que para obtener el Grado de
MAESTRO EN CIENCIAS VETERINARIAS: CERDOS
p r e s e n t a

M. V. Z. ROSALBA CARREON NAPOLES

Asesores: M.V.Z. MSc. José Miguel Doporto Díaz
M.V.Z. M.P.A. Ma. Elena Trujillo Ortega



México, D. F.

262887

1998

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN



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.

DECLARACIÓN

El autor da consentimiento a la División de Estudios de Posgrado e Investigación de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Nacional Autónoma de México para que la tesis esté disponible para cualquier tipo de reproducción e intercambio bibliotecario.



Rosalba Catreón Nápoles

DEDICATORIAS

A Dios por permitirme seguir adelante con mis sueños e ilusiones.

A mis papás Nieves y Leopoldo, que siempre me han apoyado en la vida y se que lo seguirán haciendo. Gracias, porque todo lo que he logrado es por su ayuda y comprensión. Los quiero mucho.

En especial a José Martín y a mis hijos Claudio Alejandro y José Rodrigo, por haber tomado parte de su tiempo para poder concluir este trabajo que representa muchas cosas para mí, pero que es un triunfo de todos. Se que lo comprenden y entienden. Los amo.

A mis hermanos Sergio y Julio y por supuesto a Angélica, Susan, Sergio Luis, Yadira y Misael, mi familia, en quienes siempre pienso.

AGRADECIMIENTOS

A mis asesores José Miguel Doporto Díaz y María Elena Trujillo Ortega por permitirme crecer profesionalmente con ellos. Espero que siempre sea así. Gracias.

A Multiplicadora PROAN, una empresa maravillosa que me ha permitido aprender algo del mundo porcino, particularmente al Dr. Alfredo Becerra Flores que siempre ha confiado en mi trabajo, gracias por la ayuda otorgada para la realización de esta tesis.

**A mi jurado: M.P.A. Javier Flores Covarrubias
PhD. Juan Antonio Montaña Hirose
PhD. Pedro Pradal Roa
MSc. José Miguel Doporto Díaz
M.P.A. Humberto Ramírez Mendoza**

Por el tiempo otorgado para la revisión de este trabajo, así como por sus comentarios que jamás olvidaré.

Al Departamento de Producción Animal: Cerdos, parte de mi querida Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia.

A la Universidad Nacional Autónoma de México a través de la Dirección General de Asuntos del Personal Académico por el apoyo otorgado mediante la beca proporcionada para realizar parte de estos estudios de posgrado.

RESUMEN

Carreón Nápoles Rosalba. Estudio seroepidemiológico en un sistema múltiple de producción porcina en tres sitios para evaluar vacunación y segregación para el control y posible eliminación de neumonía enzoótica (bajo la dirección de José Miguel Doportó Díaz y Ma. Elena Trujillo Ortega).

En el presente estudio se analizó por primera vez el comportamiento serológico en la progenie de cerdas no vacunadas y vacunadas contra *Mycoplasma hyopneumoniae* en un sistema múltiple de producción en tres sitios ubicado en el altiplano mexicano. Se realizaron 2 experimentos, en el primero se evaluó el comportamiento serológico de la enfermedad en condiciones naturales, mediante la técnica de E.L.I.S.A. Tween 20 y en un segundo experimento la aplicación de un calendario de vacunación al pie de cría a las 5 y 2 semanas preparto, en ambos, se obtuvieron grupos de progenie de 40 animales, los cuales fueron muestreados hasta la edad al mercado. Las variables a estudiar fueron la edad de seroconversión, la ganancia diaria de peso (G.D.P.), la conversión alimenticia (C.A.) y la lesión neumónica presente a la edad a mercado. Por otra parte se realizaron muestreos serológicos a los 7, 35, 72, 95, 125 y 150 días de edad. Los resultados obtenidos de la seroconversión fueron que en el grupo no vacunado ésta inició a los 95 días de edad en un 10% y se incrementó gradualmente hasta alcanzar su máximo a los 152 días con un 72.5%. Al implementar la vacunación se detectó la seroconversión a partir de los 7 días de edad (14.28%) para alcanzar a los 35 días un 70% de animales positivos y disminuir a un 30% a los 130 días de edad. Se observó además, que la progenie de madres vacunadas ganaba más peso en la etapa de engorda ($p < 0.05$) y tuvo mejor conversión alimenticia en relación a la de las no vacunadas. En cuanto a las lesiones observadas al rastro, el porcentaje de lesión pulmonar y severidad de la misma fue de 29.09% y 3.74% respectivamente en el grupo no vacunado, contra 9% y 0.8% en los animales vacunados. Estos resultados indican el efecto significativo de la inmunización en la presencia de la neumonía enzoótica, ya que la vacunación en el pie de cría aunado al tipo de sistema de producción, produjo una seroconversión temprana en la progenie para lograr una inmunidad de hato que permitió que al momento de entrar lo animales al sitio 2 y 3 se reflejara en la mejora de la G.D.P., C.A. y en la reducción de la lesión neumónica : Se concluye que un programa de control que consiste en vacunar a las hembras a las 5 y 2 semanas preparto y su evaluación mediante estudios serológicos, representa una opción para el control de la neumonía enzoótica, ya que permite localizar y detectar la edad de seroconversión y conocer la situación epidemiológica de la enfermedad en el hato para tomar decisiones de control y erradicación.

Palabras clave: Sistema de producción porcina en tres sitios múltiples, neumonía enzoótica, *Mycoplasma hyopneumoniae*, cerdos, vacunación.

SUMMARY

Carreón Nápoles Rosalba. Seroepidemiological study in a three multiple site sow farm to evaluate vaccination and segregation to control and possible elimination of enzootic pneumonia (under to direction of José Miguel Doperto Díaz and Ma. Elena Trujillo Ortega).

The objective of present work were to analyzed for first time the serological evaluation in the progeny of sow not vaccine and vaccine against *Mycoplasma hyopneumoniae* in a three multiple site sow farm localitate in mexican altiplane. Were two experiments, the first to evaluated the serology to *Mycoplasma hyopneumoniae* in natural conditions throught E.L.I.S.A. Tween 20 test and the second evaluated the application of vaccine to pregnant sows 5 and 2 weeks before farrow. In each one were used 40 animals that were blooding at 7, 35, 72, 95, 125 and 150 days of age. The variables to study were conversion food, dialy weight gain and pneumonic lesion. The results obtained were that seroconversion in the group no vaccine start at 95 days of age in 10 percent to finish whit 72.5 percent at 152 days of age. At progeny of sow vaccine, the seroconversion was at 7 day (14.28%) to reach 70% at 35 days of age and had better weight and conversion food at finish age. Pulmonar and severity lesion were 29.09 and 3.74% respectively in group no vaccine against 9 and 0.8% in group vaccine. This results showed the significative effect of the vaccination against enzootic pneumonia with segregation of piglets to confere passive immunity to reduce the pulmonar lesion. We concluyed that a program of control that consist in vaccine to sows and seroepidemiological studies are a option to control of enzootic pneumonia.

Key words: Three multiple site sow farm, enzootic pneumonia, *Mycoplasma hyopneumoniae*, pigs, vaccination.

ÍNDICE

	PÁGINAS
I. INTRODUCCIÓN.....	1-5
II. REVISIÓN DE LITERATURA	
a) Epizootiología.....	6-11
b) Inmunidad.....	12-15
c) Diagnóstico.....	16-19
d) Vacunación.....	20-23
e) Control y Erradicación.....	24-28
III. JUSTIFICACIÓN.....	29
IV. OBJETIVOS.....	30
V HIPÓTESIS.....	31
VI. MATERIAL Y MÉTODOS.....	32-36
VII. RESULTADOS.....	37-53
VIII. DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES.....	54-65
IX. REFERENCIAS.....	66-72

CUADROS

Cuadro 1. Serología realizada en un sistema múltiple de producción porcina en tres sitios para *Mycoplasma hyopneumoniae* Experimento 1.

Cuadro 2. Valores promedio obtenidos mediante la técnica de E.L.I.S.A. para *Mycoplasma hyopneumoniae* en un sistema múltiple de producción porcina en tres sitios Experimento 1.

Cuadro 3. Peso y ganancia diaria observada en un sistema múltiple de producción porcina en tres sitios durante la serología realizada para *Mycoplasma hyopneumoniae* Experimento 1.

Cuadro 4. Correlación de variables antes de la vacunación contra *Mycoplasma hyopneumoniae* en un sistema múltiple de producción porcina en tres sitios Experimento 1.

Cuadro 5. Serología realizada en un sistema múltiple de producción porcina en tres sitios vacunado contra *Mycoplasma hyopneumoniae* Experimento 2-I.

Cuadro 6. Serología realizada en un sistema múltiple de producción porcina en tres sitios vacunado contra *Mycoplasma hyopneumoniae* Experimento 2-II.

Cuadro 7. Serología realizada en un sistema múltiple de producción porcina en tres sitios vacunado contra *Mycoplasma hyopneumoniae* Experimento 2-III.

Cuadro 8. Serología realizada en un sistema múltiple de producción porcina en tres sitios vacunado contra *Mycoplasma hyopneumoniae* Experimento 2-IV.

Cuadro 9. Valores promedio obtenidos mediante la técnica de E.L.I.S.A. en un sistema múltiple de producción porcina en tres sitios vacunado contra *Mycoplasma hyopneumoniae* Experimento 2.

Cuadro 10. Peso y ganancia diaria en un sistema múltiple de producción porcina en tres sitios vacunado contra *Mycoplasma hyopneumoniae* Experimento 2-I.

Cuadro 11. Peso y ganancia diaria en un sistema múltiple de producción porcina en tres sitios vacunado contra *Mycoplasma hyopneumoniae* Experimento 2-II.

Cuadro 12. Correlación de variables después de la vacunación contra *Mycoplasma hyopneumoniae* en un sistema múltiple de producción porcina en tres sitios Experimento 2.

Cuadro 13. Evaluación a rastro de lesión y severidad pulmonar prevacunación y posvacunación contra *Mycoplasma hyopneumoniae*.

GRÁFICAS

Gráfica 1. Comparación del comportamiento serológico positivo antes y después de la vacunación contra *Mycoplasma hyopneumoniae* en un sistema múltiple de producción porcina en tres sitios.

Gráfica 2. Valores promedios obtenidos con la prueba de E.L.I.S.A. antes y después de la vacunación contra *Mycoplasma hyopneumoniae* en un sistema múltiple de producción porcina en tres sitios.

Gráfica 3. Ganancia diaria de peso en el sitio 3 después de la vacunación contra *Mycoplasma hyopneumoniae*.

I. INTRODUCCIÓN

El objetivo principal de la cría intensiva del cerdo es su productividad al más bajo costo posible. En esto van a influir una serie de factores como el medio ambiente, genética, nutrición, aspectos económicos y por supuesto los factores infecciosos; todos van a estar interaccionando dentro de la granja en diferente proporción.

De los problemas de salud en las granjas porcinas, los de origen infeccioso son muy importantes, debido a los porcentajes de morbilidad y mortalidad que puedan alcanzar y provocan severos daños económicos. Las enfermedades de tipo respiratorio causan pérdidas primarias tales como el retraso del crecimiento del animal y el aumento del consumo de alimento, así como pérdidas secundarias por gastos de tratamientos, medidas sanitarias y repoblación de animales. Estas características se presentan en la neumonía enzoótica del cerdo, provocada por *Mycoplasma hyopneumoniae*, ya que el cuadro clínico de esta enfermedad tiende a ser crónico (1).

La neumonía enzoótica fue reportada por Maré y Switzer en 1965 y por Hun en 1970 quien determinó que cerdos con lesiones de moderadas a severas, sufrieron una baja en su desarrollo corporal en un 7% en relación a animales sanos. En 1975 Dunne y Leman señalaron pérdidas ocasionadas por este padecimiento en Inglaterra y Estados Unidos. En 1975 en México, se cita la importancia de *M. hyopneumoniae*, debido a los estragos que puede ocasionar en la industria porcina (1).

Actualmente la enfermedad tiene una distribución mundial. La información acerca de la prevalencia de *M. hyopneumoniae* y su relación con las pérdidas

económicas están orientadas en la evaluación de pulmones a rastro. Se han publicado en hatos afectados, prevalencias del 100% y conversiones alimenticias incrementadas del 14 al 20%, así como disminución en las ganancias entre 16 y 30%. En un estudio en México, se mostró un 51% de cerdos con algún grado de lesión neumónica por infección con *M. hyopneumoniae*. En hatos infectados, las prevalencias pueden ser hasta del 81% con 6.7% de severidad de lesión neumónica (2,3).

La transmisión de la enfermedad se lleva a cabo por contacto y/o secreciones nasales y faríngeas. La infección es primero vertical (de madres jóvenes a lechones) y después horizontal al destete al realizar actividades de manejo tales como el mezclado de lechones paridos por cerdas de los tres primeros partos con lechones provenientes de cerdas de cuarto a quinto parto (4).

Los mecanismos por los cuales la micoplasmosis persiste de manera enzoótica en la granja afectada no han sido determinados totalmente, aunque se han mencionado 3 posibles situaciones:

- a) por la transmisión del agente de cerdas infectadas a sus crías,
- b) por la transmisión de cerdos infectados a cerdos susceptibles en el destete y
- c) por la transmisión de cerdos en crecimiento y engorda a cerdos jóvenes que ingresan a las unidades de producción (3).

El período de incubación en condiciones naturales varía entre 10 y 16 días. El *M. hyopneumoniae* coloniza los márgenes ventrales de los pulmones para establecerse en el epitelio bronquial y bronquiolar, principalmente en los cilios. Estos son destruidos debido a la elaboración de una o varias enzimas o de sustancias tóxicas por parte del micoplasma, que afectan la remoción de partículas y microorganismos patógenos. La presencia del agente provoca una

respuesta linfocítica peribronquial aún no bien establecida, con la presentación macroscópica de zonas de consolidación craneoventral (4).

El período de incubación depende de la interacción del agente con el organismo sobre las superficies de las mucosas traqueales y bronquiales. En estadios tempranos de la infección, gran número de mycoplasmas han sido detectados por microscopía electrónica e inmunofluorescencia, primariamente sobre la superficie de la tráquea, bronquios y bronquiolos y pocos organismos se han encontrado en alvéolos. La adherencia del agente a las células ciliadas del epitelio respiratorio parece ser un evento importante en el desarrollo de la patogenia, ya que en estudios *in vitro* membranas del mycoplasma han mostrado causar daño citotóxico a monoestratos de cultivo de tejidos (2).

De acuerdo a lo descrito, los animales infectados por *M. hyopneumoniae* van a presentar signos clínicos de enfermedad de curso crónico entre las 3 y 16 semanas de edad. Principalmente se manifiesta tos leve de tipo no productivo que puede continuar por varias semanas o meses con una elevada morbilidad y baja mortalidad, con la posterior asociación de infecciones bacterianas secundarias. Estos animales no pierden el apetito, pero su desarrollo corporal se ve afectado, por lo que el peso a mercado se alcanza a una edad mayor aun en la presencia de lesiones resueltas (1,2).

Las lesiones macroscópicas consisten en áreas de consolidación grisáceas localizadas anteroventralmente, es decir, en el lóbulo apical, accesorios y cardíaco. Microscópicamente, los estadios iniciales corresponden a zonas de infiltración de linfocitos en la adventicia de arteriolas y vénulas, posteriormente se incrementa el número de linfocitos perivascular y peribronquialmente así como en la lámina propia de las vías aéreas. Los alvéolos pueden presentar eosinófilos, edema y un incrementado número de células mononucleares (1,2).

En condiciones experimentales, cerca del día 20 postinfección hay un apreciable infiltrado linfoide alrededor de las vías aéreas y hacia el día 40 hay una proliferación extensiva de tejido linforreticular en las áreas peribronquiales y perivasculares. Las lesiones pueden desaparecer entre las 5 y 6 semanas postinfección siempre y cuando no haya complicación con una infección bacteriana (1,2).

El diagnóstico presuntivo se realiza por medio de la epizootiología, signos clínicos y las lesiones observadas a la necropsia e histológicamente. El aislamiento del agente no se realiza de rutina ya que presenta algunas desventajas. Implica un periodo de 2 a 6 semanas porque se multiplica lentamente y es enmascarado por otros mycoplasmas de lento a rápido crecimiento como *Mycoplasma hyohirnis* y *M. flocculare* (1,5).

El diagnóstico puede complementarse mediante pruebas serológicas como son la aglutinación en placa, hemaglutinación indirecta, inmunofluorescencia indirecta, aglutinación en tubo, fijación de complemento y la técnica de inmunoperoxidasa. Se ha reportado que en animales inoculados la detección de anticuerpos es más temprana al utilizar fijación de complemento y técnicas inmunoenzimáticas como E.L.I.S.A. (5).

Para el control de esta enfermedad, se puede contar con alternativas de manejo, medicación y vacunación. En el aspecto de medicación se utiliza una variedad muy amplia de antimicrobianos por diferentes vías y dosis. Estos no previenen el establecimiento de la infección, pero sí disminuyen el grado de lesión, las cuales aparentemente se desarrollan después de cesar la medicación (6).

Los biológicos contra *M. hyopneumoniae* se han desarrollado desde hace dos décadas con el propósito de prevenir los signos clínicos causados por la infección en los animales jóvenes. Los calendarios de vacunación se han establecido entre la 1 y 3 semanas de edad del lechón (5).

El control efectivo de la enfermedad depende de proveer al animal de un óptimo medio ambiente. Este incluye calidad de aire, ventilación y temperatura, así como un adecuado espacio vital y de ser posible el uso de sistemas de producción “todo dentro-todo afuera”, que es una de las más efectivas opciones para el control de enfermedades (6).

II. REVISIÓN DE LITERATURA

a) EPIZOOTIOLOGÍA

Características del antígeno

El primer mycoplasma conocido fue el agente de la pleuropneumonía contagiosa bovina cultivado en un medio artificial en 1898. Posteriormente, en 1923, fueron identificados el *Mycoplasma agalactie*, el cual fue aislado de la agalactia contagiosa de la oveja y en 1935 se identificó el primer mycoplasma aviar, conocido posteriormente como *Mycoplasma gallisepticum*. En 1965, se realizó el primer aislamiento de *Mycoplasma hyopneumonie* por Mare y Switzer en Estados Unidos y por Goodwin Pomeroy y Whitlestone en Inglaterra. Actualmente, existen más de 100 especies de mycoplasmas reconocidos (7).

Los primeros miembros de esta clase fueron denominados PPLO (organismos parecidos al de pleuropneumonía) debido a que el primer aislamiento fue realizado por Nocard en 1898 a partir de casos de pleuropneumonía contagiosa en bovinos. Después de varios años de trabajo, se aceptó que los mycoplasmas son bacterias verdaderas y tienen un mecanismo ribosomal de síntesis de proteínas; aunque el término *Mycoplasma* es comunmente usado para designar a procariontes libres de pared celular. Estos organismos pertenecen a la clase *Mollicutes* y al orden *Mycoplasmatales*, en el cual se encuentran 6 géneros:

- a) *Mycoplasma*
- b) *Ureaplasma*
- c) *Acholoplasma*
- d) *Spiroplasma*
- e) *Anaeroplasma*
- f) *Asteroplasma*

La subdivisión de las familias está basada de acuerdo al habitat, requerimientos de esteroides para crecer, tamaño del genoma y tolerancia al oxígeno. La diferenciación dentro de los géneros va de acuerdo al tipo de mecanismo usado por estos organismos para obtener energía. Las especies son definidas por criterios como propiedades bioquímicas y por varios estándares serológicos (8).

Todos los *Mollicutes* característicamente son pleomórficos debido a la ausencia de una pared celular, ya que son incapaces de sintetizar ácido n-acetilmurámico y ácido diaminopimélico. Presentan una membrana simple citoplasmática trilaminar proteica, razón por la cual la colonia muestra una apariencia de huevo frito, morfología que es característica de su multiplicación en medios sólidos. Son inherentemente insensibles a todos los agentes antimicrobianos que afectan a la pared celular, específicamente al peptidoglicano que es componente de ésta (7,8,9).

Los mycoplasmas son hospedador dependiente. Fuera del hospedador son altamente susceptibles al calor, detergentes, desinfectantes y antimicrobianos que inhiben su transcripción y transducción. Esta característica explica la necesidad que tienen de un medio relativamente rico en fracciones proteínicas previamente formadas así como de colesterol, que hace que la mayoría de los miembros de este género tengan un débil poder antigénico y su vida sea relativamente corta en un ambiente adverso (9,10).

El genoma de los mycoplasmas es pequeño, de aproximadamente 800-1200 pares de kilobases y presumiblemente solamente una parte del total es usado para la expresión de su información genética. Como una consecuencia de este limitado potencial genético, los mycoplasmas usualmente requieren una íntima asociación con la superficie de las células de los mamíferos. Manifiestan

complejos requerimientos nutricionales para su crecimiento *in vitro*, por lo que el medio debe contener adecuados niveles de proteína. Debido a su limitada cantidad de información genética codificada por su genoma, se consideran como los más pequeños organismos que se replican a sí mismos (7,8,10).

El huesped natural es el cerdo. Experimentalmente especies como el hurón, ratón, embrión de pollo, cobayo y el mono rhesus no muestran susceptibilidad al agente. Es reconocido que los mycoplasmas pueden ser altamente específicos y patógenos hacia el hospedador (2,8).

Los mycoplasmas patógenos tienen una predilección especial por el aparato respiratorio, mucosa ocular, genital y generalmente establecen infecciones persistentes superficiales. La diseminación sistémica y articular pueden seguir de la colonización mucosal, particularmente en hospedadores con escasas defensas (6,8).

El proceso de virulencia utilizado por los mycoplasmas patógenos es muy complejo e involucra lo siguiente:

a) Ataque específico y adherencia a las células epiteliales del tracto respiratorio. La adherencia a las células hospedadoras ha sido más estudiada en la neumonía atípica de humanos. Se ha mostrado que algunos mycoplasmas atacan a la membrana de las células epiteliales y otros a los cilios y que en este proceso intervienen varias e importantes proteínas. Esto sugiere que la adherencia es un evento específico hacia el hospedador y que es mediado por proteínas y carbohidratos localizados sobre la superficie del mycoplasma y dentro de la membrana celular del hospedador (11).

La mayoría de los mycoplasmas que provocan neumonía, se adhieren al

epitelio ciliado e inducen ciliostasis, pérdida de los cilios y cambios citopáticos en las células epiteliales. El fundamento de esta ciliostasis puede ser las alteraciones inducidas en la membrana ciliar, ya que los mycoplasmas están en una proximidad estrecha a los cilios del epitelio bronquilar. Esta característica ha sido demostrada varias veces en lesiones agudas e intermedias de pulmones afectados a través de técnicas de inmunofluorescencia (4,11).

b) Daño oxidativo. Los mycoplasmas producen peróxido de hidrógeno y otros radicales oxígeno, los cuales son secretados al estar en estrecha relación con la membrana de la célula eucariótica. Esto ocasiona una disrupción y desorganización del tejido epitelial debido a la citotoxicidad provocada por la peroxidación (11).

Se ha publicado que *M. hyopneumoniae* es citotóxico para los fibroblastos pulmonares porcinos, donde las proteínas de membrana parecen ser las responsables (10,11).

c) Cápsulas y otras estructuras de superficie. El mecanismo de acción de estos componentes mycoplasmales no es claro, sin embargo, es probable que ayuden al agente a evadir la respuesta inmune del hospedador y puedan estar involucrados en el ataque hacia las células epiteliales (11).

d) Interrupción del metabolismo del hospedador. Los mycoplasmas producen exo y endonucleasas que probablemente intervienen en el metabolismo de las células del hospedador para la adquisición de purinas y pirimidinas necesarias para su crecimiento (11).

e) Localización de los sitios antigénicos. La ausencia de pared celular, trae como consecuencia que la superficie antigénica que los mycoplasmas exponen al

hospedador infectado, sea de la membrana celular. Se ha encontrado que la mayor superficie antigénica corresponde a glicolípidos y proteínas, aunque los primeros son generalmente pobres inmunógenos (12).

Se han detectado una gran variedad de antígenos proteicos, de los cuales la mayoría son intracelulares. Estas proteínas y ácidos nucleicos son presentados al sistema inmune del hospedador a través de mecanismos como la fagocitosis y degradación.

f) Efecto citopático. Un factor citopático de características proteicas con un peso molecular de 54 kd ha sido localizado en la membrana celular de *M. hyopneumoniae*. Es capaz de producir efecto citopático en líneas celulares de fibroblastos de pulmón humano. Esta actividad citotóxica también ha sido estudiada en cultivos de órganos traqueales de lechones recién nacidos donde inducen ciliostasis con pérdida de los cilios, lo cual demuestra que el mycoplasma necesita estar en una estrecha relación al epitelio ciliar (11).

La patogénesis de la cronicidad de la enfermedad es muy compleja y depende de una respuesta inflamatoria y proliferativa por parte del hospedador, así como de una alteración o evasión de la respuesta inmune. Este proceso puede ser descrito de la siguiente manera:

g) Producción de Inmunoglobulina A (IgA). Es conocido el efecto protector de esta inmunoglobulina en secreciones mucosas. Algunos mycoplasmas producen una proteasa con capacidad de destruir a la IgA, lo que contribuye a la patogénesis de la enfermedad (11,12).

h) Variación antigénica de las proteínas. Los mycoplasmas poseen cromosomas con sistemas de recombinación, que regulan la expresión de

grandes familias de genes y son capaces de generar unos rangos extraordinarios de diversidad antigénica (11,12).

i) Efecto mitogénico. Los infiltrados linfocitarios son una consecuencia de la lesión pulmonar inducida por *M. hyopneumoniae* en el cerdo. Al respecto se ha publicado que al investigar sobre el efecto en linfocitos sanguíneos y en nódulos linfoides bronquiales de cerdos nacidos naturalmente y por cesárea, se encontró que *M. hyopneumoniae* tiene un efecto estimulador moderado no específico sobre los linfocitos. Esto resulta en una alteración de la función del sistema inmune, ya que puede ser un factor mitogénico de origen proteico, que contribuya en la patogénesis de la neumonía mycoplasmica del cerdo (11,13).

Es conveniente mencionar que existen agentes infecciosos en asociación a *M. hyopneumoniae* que van a participar en el desarrollo y presentación de los signos clínicos y lesiones. Los agentes que frecuentemente se han observado son virus, tales como adenovirus tipo 4 y coronavirus y con lo que respecta a bacterias se han asociado *Actinobacillus pleuropneumoniae*, *Salmonella spp.*, *Pasteurella multocida*, *Streptococcus spp* y parásitos como el *Ascaris spp* y *Metastrongylus spp* (14).

b) INMUNIDAD

Los mycoplasmas han sido clasificados como agentes inmunogénicos deficientes. Sin embargo, el perfeccionamiento de métodos de cultivo *in vitro* y de métodos serológicos más avanzados, han mostrado evidencias de que la respuesta inmune desarrollada es la necesaria para poder ser detectada. La respuesta de anticuerpos puede ocurrir local y sistémicamente siendo de una modulación variable que trae como consecuencia un curso variable de la enfermedad. Normalmente la IgA se encuentra en el tracto respiratorio de manera activa como primera línea de defensa para inhibir al *M. hyopneumoniae* con funciones de opsonización y lisis (2,6).

El sitio inicial de interacción entre el organismo y el sistema inmune del hospedador ocurre cerca del sitio de infección. Los plasmocitos de IgM aparecen en el infiltrado peribronquial al final de la primera semana de infección. La IgG y la IgA aparecen subsecuentemente, dando fuertes evidencias de la formación de anticuerpos locales. En los nódulos linfoides retrofaríngeos y bronquiales se genera la producción de inmunoglobulinas en cantidades elevadas a las 2 semanas postinfección. En animales infectados intranasalmente, aparece una proliferación peribronquial de células linfoides en el tracto respiratorio bajo después de varios días (12).

El *M. hyopneumoniae* puede persistir en los nódulos linfoides en una primera fase de la infección, cuando todavía no se ha instaurado la inmunidad humoral. Esto es debido a que los mycoplasmas patógenos no pueden ser fagocitados si previamente no hay una opsonización por los anticuerpos específicos. El mycoplasma induce una enfermedad crónica que puede ser la consecuencia de un retraso en la aparición de inmunoglobulinas, pero en una segunda fase de infección, y ya en presencia de anticuerpos específicos, los

mycoplasmas pueden ser retenidos sistémicamente en los ganglios mediastínicos para ser fagocitados (15).

Al evaluar histológicamente los nódulos linfoides bronquiales de cerdos inoculados experimentalmente a diferentes tiempos de infección, las regiones cortical (timo independiente-humoral) y paracortical (timo dependiente-celular), sufren hiperplasia durante el estado activo de neumonía enzoótica. Esto indica que se pueden encontrar y detectar tempranamente anticuerpos por medio de diferentes pruebas serológicas. Asimismo se puede manifestar la inmunidad mediada por células, ya que los centros germinales de los nódulos linfoides bronquiales se activan (16,17).

Los anticuerpos contra *M. hyopneumoniae* han sido detectados por técnicas de E.L.I.S.A. en muestras serológicas de cerdos inoculados experimentalmente. En las 2 semanas postinoculación la respuesta inmune humoral fue IgG e IgA. Esto coincide con otra publicación, donde se comenta que la IgA se detecta tempranamente, seguida por la IgG. En el caso de la IgM, los incrementos son moderados y alcanzan un pico a los 80 días postinoculación (16,18).

En cerdos de 7 y 10 semanas de edad inoculados experimentalmente, se mostró que la IgG da una fuerte reacción, ya que desde las 2 semanas se detectó al igual que la IgA. A las 4 semanas hubo una fuerte reacción a IgG y se mantuvo la IgA, a las 6 semanas ambas inmunoglobulinas se mantuvieron y hacia la 8a. semana la IgG decreció (16,19).

La respuesta inmune correlaciona de una forma positiva y paralela en relación a la recuperación de la enfermedad. Esto se basa sobre la reducción de la lesión neumónica y la detección de *M. hyopneumoniae* por la técnica de

inmunofluorescencia, ya que se han encontrado gran cantidad de células productoras de globulina en pulmones de cerdos que reaccionan positivamente a este agente (16,19).

El incremento de IgG detectada por la técnica de E.L.I.S.A y de células productoras de globulinas indican el importante papel de esta inmunoglobulina en la neumonía enzoótica, ya que hay que recordar que la IgG generalmente se asocia al tracto respiratorio bajo porcino y la IgA con el tracto superior (16,19).

Cuando se realizan en las granjas muestreos sanguíneos de manera regular, la infección por *M. hyopneumoniae* puede comenzar a detectarse desde los 7 a 9 días postinfección. La máxima seroconversión se alcanza entre los 86 y 144 días de edad, ya que los animales comienzan a ser infectados en las naves de engorda, debido a que la inmunidad calostrual previene contra la colonización del mycoplasma en la vida temprana del lechón (20).

En cerdos, se ha observado por medio de técnicas como hemaglutinación indirecta, que la inmunidad pasiva persiste de 14 a 51 días de vida del animal, siempre y cuando provengan de hembras vacunadas. La vida media de los anticuerpos contra *M. hyopneumoniae* en la descendencia de hembras positivas es de 15.8 días (21).

La detección de anticuerpos en calostro puede ser otra herramienta para detectar infecciones subclínicas de *M. hyopneumoniae*. Se ha encontrado mediante la técnica de E.L.I.S.A. que los anticuerpos aparecen de 4 días a 6 meses antes de observarse signos clínicos. Puede suceder que se detecten anticuerpos en calostro pero no en el suero de la hembra, sin embargo estos anticuerpos se transmiten al lechón y persisten solamente por 3 semanas después del nacimiento (22,23).

Morris *et al.*, demostraron que los cerdos pueden ser 7 veces más propensos a seroconvertir si han estado en contacto con otros cerdos infectados (ya sea en el mismo corral o en corrales adyacentes). Los primeros animales positivos fueron a los 21 días después del primer contacto. Se publica que la IgG puede ser detectada al día 10 y que los títulos altos pueden tomar de 3 a 5 semanas para desarrollarse después del contacto inicial (24).

En el caso de inmunidad celular a través de pruebas de hipersensibilidad tardía, se ha observado respuesta hasta por un período de 44 a 66 semanas postinoculación. Se ha publicado alteración en la función de los macrófagos alveolares e inmunosupresión de los cerdos afectados (13).

Al realizar inoculaciones experimentales, la inmunidad celular detectada por la estimulación de linfocitos ha sido evidenciada en los nódulos linfoides y después en los linfocitos sanguíneos, que alcanzan la circulación sistémica después de algunos días (13).

c) DIAGNÓSTICO

En México, el aislamiento del agente tiene algunas desventajas, ya que no se realiza de rutina y además implica un período de 2 a 6 semanas. El *Mycoplasma hyorhinis* acidifica el medio de cultivo debido a su rápida multiplicación e impide el desarrollo de *Mycoplasma hyopneumoniae* y de *Mycoplasma flocculare*. Se ha publicado que de 150 muestras de pulmones, se logró cultivar sólo de 70, lo que representa un 46.6% y de los cuales 12 presentaban lesiones microscópicas típicas de neumonía enzoótica. Se logró además cultivar el mycoplasma a partir del nódulo mediastínico (1,15,25).

Una opción en la detección del agente ha sido la prueba de la inmunofluorescencia (I.F.) y se utiliza como un diagnóstico definitivo para evidenciar al agente. Para llevar a cabo este procedimiento los pulmones sospechosos deben ser colectados para aislamiento y pruebas de I.F. Los pulmones para aislamiento deben ser almacenados en refrigeración hasta que los estudios de I.F. sean completados, ya que si esta última resulta negativa, las muestras refrigeradas deben ser usadas para intentar el aislamiento. Se recomienda tomar una muestra de animales en fase aguda de la enfermedad, además, es necesario que una porción de cada uno de los cuatro lóbulos anteriores sea examinada porque es en éstos, donde comunmente se encuentra el mayor número de microorganismos.

Debe tomarse una muestra tanto del órgano sano como del afectado y en ausencia de lesiones serán colectadas del margen ventral del lóbulo, además de que los contaminantes de la superficie deberán ser removidos. Al momento de hacer la observación de la prueba de I.F., los *M. hyopneumoniae* se encontrarán presentes sobre la superficie del epitelio bronquial y bronquiolar (26).

Otra alternativa en la demostración del agente ha sido el utilizar pruebas de inmunoperoxidasa a partir de cortes de tejidos por congelación. La presencia del mycoplasma se hace evidente por la observación de colonias de un color rojo-café pleomórfico, distribuidas sobre la superficie de las células epiteliales. Esta técnica puede ser realizada también a partir de cortes de tejido pulmonar embebidos en parafina, donde los organismos se localizan sobre la superficie y lámina bronquial y bronquiolar del epitelio e intracelularmente en los macrófagos. La técnica de inmunoperoxidasa permite además la fácil visualización de los organismos teñidos por medio de un microscopio de luz (28).

Un ensayo más sofisticado pero más sensible y específico ha sido la utilización de la reacción en cadena de la polimerasa (P.C.R.) para identificar ciertos segmentos. La secuenciación ha sido utilizada para diferenciar entre *M. flocculare*, *M. hyopneumoniae* y *M. hyorhinis* y se publica que este ensayo puede ser específico para los mycoplasmas porcinos (29).

La identificación indirecta del agente causal puede ser a través de técnicas serológicas. Estas se han practicado desde la década de 1920 para diagnosticar la pleroneumonía de los bóvidos con técnicas como aglutinación, precipitación y fijación de complemento. Entre los métodos serológicos, tenían importancia práctica especialmente la aglutinación, la prueba de inhibición del crecimiento, fijación de complemento y la precipitación en agar-gel, pero la utilización de estas pruebas llevaba implícito un elevado gasto de tiempo, trabajo y experiencia (30).

Actualmente tanto en Europa como en Estados Unidos se ha utilizado la prueba serológica inmunoenzimática E.L.I.S.A. en la detección de anticuerpos para *M. hyopneumoniae*. En un inicio hubo problemas de especificidad debido a las reacciones cruzadas entre los mycoplasmas porcinos, sin embargo,

actualmente existe una prueba de E.L.I.S.A. Tween 20 que no representa este problema (32).

Las investigaciones seroepidemiológicas han estado enfocadas particularmente a las infecciones subclínicas de *M. hyopneumoniae* con el empleo de técnicas diagnósticas como E.L.I.S.A. Se ha demostrado que es altamente sensible y específica y ha tenido una amplia difusión para el estudio de esta enfermedad (32).

La opción que ofrece la técnica de E.L.I.S.A. es el poder analizar un gran número de muestras en forma rápida y segura. Es capaz de detectar 0.0003 μ g/ml de proteína, mientras que la hemaglutinación indirecta detecta 0.005 μ g/ml y fijación de complemento 0.03 μ g/ml. En el caso de especificidad, siempre se ha discutido la reacción cruzada que existe con *M. flocculare*, pero se conoce que los cerdos no desarrollan suficientes niveles de anticuerpos contra éste para interferir con *M. hyopneumoniae*, lo que demuestra que puede ser específica en la detección de anticuerpos.

Se sabe que la respuesta inmune para *M. flocculare* se desarrolla lentamente y no se han detectado anticuerpos contra este agente en el suero de animales pertenecientes a hatos libres de *M. hyopneumoniae*. Además, en hatos afectados por neumonía enzoótica, los sueros de los animales pueden contener anticuerpos para ambos agentes pero los valores ópticos para *M. flocculare* son menores en relación a los de *M. hyopneumoniae* (27,32,33).

Para evitar las reacciones cruzadas entre mycoplasmas, una opción ha sido el utilizar un antígeno purificado tratando las colonias de *M. hyopneumoniae* con Tween 20. El mecanismo de acción consiste en extraer proteínas específicas de la membrana, para incrementar la especificidad de la prueba y demostrar que puede evitarse la reacción cruzada con *M. hyorhinis*, *M. hyosynoviae*, *M. hyopharingis*,

M. flocculare y *Acholeplasma granularum*, lo que ha permitido el uso de esta técnica para estudios seroepidemiológicos en diferentes partes del mundo como en Japón y México (31,34,35).

La técnica de E.L.I.S.A. es capaz de detectar anticuerpos hasta por periodos de un año, siempre y cuando el animal permanezca en constante exposición al agente. Además, pueden encontrarse anticuerpos sin que el animal muestre lesiones incluso si los exámenes de aislamiento e inmunofluorescencia resultan negativos, lo que refleja la sensibilidad de este ensayo en la detección de bajas concentraciones de anticuerpos (36).

Existen técnicas de E.L.I.S.A. que utilizan anticuerpos monoclonales específicos para el epítipo localizado en la molécula de 74 kd. Se ha mostrado que los anticuerpos para éste se reconocen en una fase temprana de infecciones experimentales con *M. hyopneumoniae*, con un 93% de sensibilidad y 96% de especificidad (37,38).

El uso de técnicas serológicas altamente rápidas y seguras tales como E.L.I.S.A., pueden proveer una estimación real de la fase de producción o edad en la cual la infección por *M. hyopneumoniae* puede ocurrir más frecuentemente (24).

d) VACUNACIÓN

Los criterios para una inmunización adecuada incluyen principalmente una respuesta inmune local y sistémica, así como una duración de la inmunidad. Esto se reflejará en el comportamiento de la enfermedad, como lo es el desarrollo de lesiones pulmonares y la severidad de éstas.

Desde hace más de 2 décadas, se han desarrollado biológicos para el control de la neumonía enzoótica. Se sabe que una exposición al antígeno es capaz de inducir una resistencia más efectiva y una colonización limitada, sin embargo, los resultados son poco alentadores debido a la poca capacidad antigénica del *M. hyopneumoniae* (39).

Inicialmente se usaron cultivos del agente inactivados con formol y aplicados vía subcutánea, sin producir una respuesta considerable. Más tarde, al utilizarlos vía intramuscular, produjeron reacciones locales severas por los adyuvantes empleados, además de no producir inmunidad satisfactoria. En 1971 Lam y Switzer probaron 5 bacterinas con diferentes inactivantes y lograron disminuir las lesiones neumónicas, pero sin prevenir la colonización del pulmón. Kristensen en 1981 al desafiar lechones inmunizados con bacterinas mezcladas con adyuvante de Freund, tampoco mostró efecto protector de la inmunización (12).

En relación a las vías de aplicación del inmunógeno, al utilizar la intravenosa, subcutánea o intraperitoneal se publicó que el aislamiento del agente fue en menor frecuencia en los animales inmunizados. Asimismo, se ha observado que la inoculación intranasal con organismos virulentos induce un grado de inmunidad similar a la infección natural. Las vacunas aplicadas por vía parenteral particularmente si está combinada con adyuvante producen una

adecuada protección, esto es primariamente una reducción de la neumonía, con un mínimo efecto en el número de organismos aislados de pulmón (12).

Se ha observado que si se usa antígeno muerto y se inocula vía intraperitoneal, la inmunogenicidad capaz de proteger contra la infección intranasal del *M. hyopneumoniae* disminuye y se presenta el desarrollo de la lesión neumónica. La inoculación intranasal y parenteral con organismos virulentos atenuados, producen más protección al igual que con la vía parenteral, por lo tanto, este tipo de vacunas proporcionan una amplia protección (40).

Para las inmunizaciones por aerosol se han utilizado nebulizadores con partículas de 0.5 a 5 μm . Se ha demostrado que no difiere de vías como la intramuscular u oral en el desarrollo de la respuesta local y sistémica a través de la prueba de E.L.I.S.A. pero no previenen el desarrollo de lesiones. Esta limitante puede explicarse por diversos factores como son fallas en el depósito de la vacuna en el pulmón, rápida limpieza del inmunógeno por el aparato mucociliar, inadecuada dosis o frecuencia de vacunación (41).

En relación a los calendarios de vacunación, su aplicación ha estado orientada principalmente hacia el lechón, pero es importante recordar que la inmunidad pasiva puede interferir con la síntesis propia de anticuerpos inducida por la vacunación. Algunos proveedores de productos biológicos recomiendan vacunar al lechón entre 7 y 10 días de edad y revacunar 2-3 semanas después. La vacunación del lechón puede ser demorada si una alta concentración de anticuerpos es detectada en la cerda, por lo que es necesario determinar los títulos de anticuerpos protectivos contra *M. hyopneumoniae* para obtener óptimos resultados (5,21,42,43).

El propósito de la vacunación es prevenir los signos clínicos causados por la infección en los animales jóvenes. La protección puede ser obtenida por anticuerpos maternos que pueden proveer una inmunidad hasta las 5 semanas de edad, lo cual permitiría vacunarlos entre 1 y 3 semanas después, pero preferiblemente antes de comenzar el período de engorda (5,44).

La vacunación entre 1 y 3 semanas de edad en lechones libres de patógenos específicos (S.P.F.) provee hasta el 94% de protección en el desarrollo de lesiones. En lechones provenientes de cerdas convencionales, animales vacunados entre 1 y 3 semanas de edad y desafiados a los 1, 2 y 4 meses mostraron protección hasta del 65% contra el desarrollo de lesiones, asimismo resultados similares se han obtenido cuando se realizaron vacunaciones a las 10 y 12 semanas de edad. Esto también ha sido confirmado en otros estudios que publican que la vacunación entre 1 y 3 semanas de edad da mejor resultado que cuando se realiza a las 4 y 7 semanas (5,44).

En hembras vacunadas 8 y 2 semanas previas al parto, la vacunación ha producido anticuerpos detectados en la progenie, a través de la prueba de E.L.I.S.A., hasta por 2 meses en elevada concentración y duración. La lesión pulmonar y la presencia del agente en la progenie, detectado por inmunofluorescencia fue en menor porcentaje (45).

Estudios realizados en los Países Bajos publican que la vacunación en cerdos destetados en condiciones de campo mostró eficiencia en la reducción de lesiones pulmonares e incremento en las ganancias diarias de peso. Similares resultados se han descrito en Estados Unidos donde publican que la lesión pulmonar se reduce hasta en un 60% y que además se incrementa la ganancia diaria de peso; pero se ha reportado que la vacunación no influye

significativamente en la detección del agente a partir de hisopos nasales, aislamientos pulmonares y pruebas serológicas (46,47).

La mayoría de los estudios indican que es una simple dosis de vacuna improbable que produzca una inmunidad duradera contra la infección y lo que se debe lograr es la estimulación de anticuerpos sistémicos para prevenir las manifestaciones clínicas de la neumonía enzoótica en el hato (12).

e) CONTROL Y ERRADICACIÓN

En los brotes de enfermedades infecciosas, el número de cerdos afectados y su consecuencia sobre la productividad y la severidad en las lesiones producidas, depende de la salud de los cerdos, estado nutricional, inmunidad hacia la infección, virulencia al desafío y de su interacción entre las defensas locales del organismo y de su relación con el medio ambiente (48).

Es importante mencionar que los factores predisponentes juegan un papel importante en la presentación de la enfermedad y la complejidad del proceso neumónico. Hay que considerar el alimento polvoso, densidad de población, sistemas de producción, humedad ambiental, temperatura, concentración de gases, tipo de instalaciones, presencia de otros agentes infecciosos e incluso el estrés que incrementan la susceptibilidad a la enfermedad y la severidad de las lesiones y de los signos clínicos (14).

Para el control de la neumonía enzoótica se han utilizado varios antimicrobianos a diferentes dosis y por varias vías. En el caso de enrofloxacin via alimento ha sido recomendada por 10 días, sin embargo se sugiere que para infecciones severas, se aplique un tratamiento inicial intramuscular seguido por la medicación via oral. En el caso de oxitetraciclinas de larga duración, no previenen el desarrollo de lesiones pulmonares. La lincomicina via alimento a 200 ppm. ha mostrado reducir la incidencia y severidad de la enfermedad (49,50,51).

Al evaluar la eficacia de diferentes antimicrobianos como la tiamulina, lincomicina, tetraciclina, enrofloxacin y tilosina, se encontró que la tiamulina fue de 20 a 60 veces más activa que los otros medicamentos (52).

En lo que respecta a los métodos para el control y/o erradicación de

enfermedades, se mencionan 3 estrategias a seguir:

1.- Prueba y eliminación. Este tipo de programa es el menos costoso. Debe de realizarse una continua detección los animales positivos para que haya un flujo continuo de eliminación (54).

2.- Despoblación y repoblación. Este es un procedimiento costoso debido al tiempo prolongado durante el cual no existe producción, sin embargo resulta una elección cuando la seroprevalencia de la enfermedad es elevada, además de existir enfermedades concomitantes. En este método la eliminación del pie de cría es alternativa y la de los animales de la línea de producción es cuando alcancen el peso de mercado. Posterior a la eliminación, se deben lavar y desinfectar las diferentes áreas de la granja, incluyendo comederos y fosas (54).

3.- Segregación de los descendientes. Este es un sistema novedoso que consiste en separar a los animales a edad temprana de su madre y mantenerlos en unidades aisladas limpias y desinfectadas. Permite la eliminación de varios agentes infecciosos de manera simultánea (54).

La segregación se ha utilizado con diferentes variables de acuerdo a las diferentes necesidades y circunstancias:

- a) MEW: Destete medicado temprano (Alexander, *et al*, 1980)
- b) MMEW: Destete medicado temprano modificado (Harris, *et al*, 1992)
- c) ISOWEAN: Tres sitios de producción y múltiples sitios de producción aislados (Harris, *et al* .1983)
- d) SEW: Destete segregado temprano (Conors, 1990)

Existen algunas consideraciones que deben discutirse en relación a *M*.

hyopneumoniae en sistemas MEW/MMEW:

a) Edad al destete. Entre más grandes se desteten los lechones, resulta poco eficiente, ya que si se realiza a una edad menor a 18 días, es mejor para controlar y eliminar al agente, pero debe haber un promedio de edad al destete.

b) La transferencia o donación de cerdos demasiados grandes debe ser considerada, ya que pueden actuar como portadores dentro de las lactancias.

c) Cerdos producidos en hatos jóvenes parecen tener una incidencia elevada de *M. hyopneumoniae* asociado a brotes.

d) Es importante determinar el costo de vacunación y medicación ya que se ha reportado la efectividad sólo en algunas granjas, por lo que el manejar registros de peso y conversión alimenticia es esencial (55).

Destete Medicado Temprano (MEW)

Este sistema fue desarrollado en 1980 por Alexander *et al.* y consiste en separar a las hembras gestantes del hato original con medicación a los lechones. Se les administran altas dosis de antimicrobianos y son destetados a los 5 días de edad para ser segregados a una instalación con sistema todo dentro-todo fuera, para continuar la medicación por otros 10 días y suspenderse a los 20-35 kg de peso (44).

El MEW ha sido utilizado en diferentes países como Alemania, Brasil, Canadá, Estados Unidos, Hungría y Reino Unido. Se ha empleado para el control y erradicación de diferentes agentes infecciosos como *M. hyopneumoniae*, *M. hyosynoviae*, *Pasteurella multocida*, *Actinobacillus pleruopneumoniae*, *Bordetella bronchiseptica*, *Serpulina hyodysenteriae*, así como para algunos virus como el

coronavirus de la gastroenteritis transmisible y el herpesvirus de la enfermedad de Aujeszky (44).

El utilizar este sistema trae como consecuencia mejoras en la ganancia diaria de peso y en la conversión alimenticia en relación a los animales que permanecen en la piara original así como un elevado estado sanitario. Esto último puede representar una desventaja ya que los animales poseen una inmunidad escasa por no estar expuestos a los antígenos presentes en la granja.

Destete Medicado Temprano Modificado (MMEW)

Es un sistema modificado que permite a las cerdas permanecer en la granja de origen y parir en esa unidad. El destete se prolonga hasta los 21 días de edad y se han podido eliminar agentes como *M. hyopneumoniae*, *Actinobacillus pleuropneumoniae*, *Pasteurella multocida* y virus como el de la influenza porcina, el del síndrome disgénésico y respiratorio del cerdo, de la enfermedad de Aujeszky y de la gastroenteritis transmisible. Se obtienen cerdos de elevado nivel sanitario con reducción de costos por medicación y vacunación y se aumenta la resistencia a las enfermedades a una edad temprana (48).

Múltiples Sitios de Producción (ISOWEAN)

En el año de 1988, Harris propuso la separación de las etapas de producción en tres sitios y múltiples sitios de producción con el objeto de simplificar la técnica de segregación y poder darle una mejor aplicación. Este tipo de producción consiste en la construcción o reconstrucción de granjas en tres o más sitios para albergar cerdos e incluye lugares para animales de varias edades en diferentes sitios geográficos. Inicialmente fue un concepto para granjas productoras de pie de cría, pero últimamente se ha aplicado en granjas productoras de animales para abasto (44).

Este tipo de sistemas se han implementado en diversas partes del mundo como en Brasil, Argentina, Chile, México y principalmente en Estados Unidos. Los sistemas diseñados de esta forma disminuyen la necesidad de una despoblación total en lo que respecta al pie de cría, que permite la eliminación de enfermedades en forma más rápida. Estos sistemas han reducido la incidencia y severidad de *M. hyopneumoniae* en cerdos en crecimiento.

Estos conceptos se basan en la colonización temprana que sufre el lechón durante la etapa de lactancia. Se ha visto que *M. hyopneumoniae* puede ser eliminado en animales menores a 14 días de edad, ya que cuando se realiza el destete a mayor edad, no todos los cerdos pueden escapar a la colonización y una proporción de éstos pueden actuar como portadores del mycoplasma en las etapas de crianza, destete y engorda. Esto es importante ya que la mayoría de los cerdos criados en sistema ISOWEAN no son colonizados por *M. hyopneumoniae*, pero inicialmente tienen inmunidad calostrual que los protege y conforme crecen, la inmunidad pasiva disminuye y comienzan a infectarse (66).

Tal vez la principal desventaja de este tipo de sistema puede ser el elevado requerimiento de capital inicial, sin embargo esto se compensa con el decremento en la presencia de enfermedades y la mejoría en los parámetros de producción. Se ha demostrado que la producción en tres sitios es una excelente alternativa a la despoblación para obtener un elevado estado de salud, lo que representa una opción rentable para la producción porcina (44,66).

III. JUSTIFICACIÓN

Debido a la alta incidencia de la neumonía enzoótica, así como a los costos elevados que representa el control de esta enfermedad, principalmente por los cuadros clínicos crónicos que provocan retraso en el crecimiento y una baja en la ganancia diaria de peso, se decidió aplicar un programa de control y erradicación basado en la segregación de la descendencia y en la implementación de un programa de vacunación con un biológico inactivado.

Se ha publicado el efecto positivo que tiene la vacunación utilizada en lechones en granjas de ciclo completo, pero se desea conocer su beneficio o utilidad en un sistema de producción múltiple de tres sitios y aplicada en el pie de cría para el control de la enfermedad previamente diagnosticada y valorar su posible erradicación.

IV. OBJETIVOS

EXPERIMENTO 1

1) Determinar la presencia de neumonia enzoótica por medio de antecedentes clínicos y de la detección de anticuerpos por medio de la técnica de E.L.I.S.A. Tween 20.

2) Determinar la edad de prevalencia de la infección por *M. hyopneumoniae* a través de la detección de anticuerpos por medio de la técnica de E.L.I.S.A. Tween 20.

EXPERIMENTO 2

1) Determinar el efecto de la segregación de la progenie sobre la presencia de la neumonía enzoótica, para su control y vacunación.

2) Evaluar el efecto vacunación en la progenie con un biológico inactivado para el control de la enfermedad.

3) Evaluar la posible erradicación de esta enfermedad con base a los resultados anteriores.

V. HIPÓTESIS

1.- El control de la neumonía enzoótica es posible mediante el uso y aplicación de medidas de inmunización y segregación en un sistema múltiple de tres sitios en producción.

2.- La prevalencia de la neumonía enzoótica es significativamente menor y con tendencia a desaparecer, conforme se realiza la segregación de la descendencia en tres sitios en producción.

VI. MATERIAL Y MÉTODOS

El trabajo se realizó en un sistema múltiple de producción porcina en tres sitios con antecedentes clínicos de neumonía enzoótica. Dicho sistema se encuentra ubicado en el Estado de Jalisco.

El estado de Jalisco se encuentra a una altura promedio sobre el nivel del mar de 1750 m. Posee un clima semiseco durante casi todo el año. La temperatura promedio anual es de 19°C con una máxima entre 26°C y 30°C y una mínima entre 8°C y 12°C. La humedad relativa es de 55 a 65% y la precipitación media anual es de 715.2 mm. Los meses de lluvia son de junio a septiembre.

La granja se caracteriza por ser de sitios múltiples bajo el sistema de tres sitios, con una distancia entre ellos de 10.5 kilómetros.

La población se segrega de la siguiente manera:

Sitio 1. Integrado por 2 unidades de producción de 5,000 cerdas cada una, en las que se encuentran áreas de adaptación, servicios, gestación y maternidad. El sitio está bien delimitado por una barda perimetral y cuenta con instalaciones tecnificadas, así como con un sistema de alimentación automatizado, además de una oficina, baños y fosa de fermentación. El sitio opera bajo el sistema todo dentro-todo fuera, los lechones son destetados a los 21 días de edad y son recogidos por un camión por fuera de la malla perimetral para ser trasladados al sitio 2.

Sitio 2. Integrado por 4 unidades con 9,000 animales cada una, donde permanecen hasta los 35 kg. Cuenta con instalaciones tecnificadas e incluye hasta la etapa de desarrollo. El sitio se encuentra bien delimitado por una barda perimetral y también se realiza el sistema todo dentro-todo fuera.

Sitio 3. Integrado por 9 unidades con 9,000 animales mayores de 35 kg que salen a rastro, sólo incluye la etapa de finalización.

ANIMALES EXPERIMENTALES

Los animales utilizados para la inmunización fueron pie de cría de la línea Yorkshire x Landrace-Yorkshire, identificados de forma permanente con un arete de plástico. La progenie fue identificada con muesca.

PROCEDIMIENTO:

EXPERIMENTO 1

Se determinó la presencia de neumonía enzoótica por medio de la detección de signos clínicos característicos de la enfermedad (tos crónica, retraso en el crecimiento) principalmente en las áreas de engorda.

Posteriormente al realizar chequeos a rastro se encontraron lesiones sugestivas de *M. hyopneumoniae*. Se tomaron muestras de pulmón afectado para estudios histopatológicos, los cuales revelaron lesiones compatibles con neumonía enzoótica.

Para evaluar la prevalencia de la enfermedad se seleccionaron 40 lechones al azar, provenientes de hembras multíparas (tercer parto en adelante) a los cuales se les diseñó un programa de sangrado a las siguientes edades: 7, 35, 60, 90, 120 y 165 días, que corresponde a las etapas de producción localizadas en cada sitio.

Cada uno de estos cerdos fue sangrado de la vena yugular. Posteriormente para obtener el suero sanguíneo, las muestras se dejaron reposar a temperatura ambiente colocando los frascos oblicuamente. Después se transfirió el suero con una pipeta Pasteur a un tubo estéril para congelarse a -20°C hasta su uso.

SEROLOGÍA

Los sueros sanguíneos previamente congelados, fueron analizados mediante un ensayo inmunoenzimático (E.L.I.S.A. Tween 20), comercialmente conocido como Hypotest kit (Chekit Mh-test, Bommeli), que es una técnica diagnóstica con más del 90% de sensibilidad y especificidad.

Los sueros fueron analizados en forma pareada. La muestra se diluyó 1:200 y se colocaron 200 microlitros de esta dilución en cada pozo. Se incubó por un período de una hora. Se lavó 3 veces con solución de lavado previamente preparada a una dilución 1:10. Posteriormente se agregaron 200 microlitros del conjugado (anti-IgG de cerdo marcado con peroxidasa) diluido 1:200 y se incubó una hora. Finalmente se lavó nuevamente las placas y se adicionaron 200 microlitros de cromógeno ABTS.

La lectura se realizó a los 15 minutos en un lector de E.L.I.S.A. con un filtro de 405 nm para obtener las densidades ópticas.

En la interpretación de los resultados, los valores de las muestras se refieren a los controles positivos y se expresan en porcentajes bajo la siguiente escala:

Menor a 50%	Negativo
Entre 51 y 70%	Sospechoso
Mayor a 71%	Positivo

LESIONES MACROSCÓPICAS

Una vez que los animales alcanzaron su peso comercial y fueron llevados a sacrificio, se realizó una inspección de las canales en el rastro para evaluar el

grado de lesión pulmonar presente y referir esos datos con el resto de los resultados.

LESIONES MICROSCÓPICAS

A partir de la inspección a rastro, se tomaron muestras en formalina al 10% de aquellos pulmones que mostraron lesiones sugestivas de neumonía enzoótica, para ser evaluados histológicamente por medio de la tinción de hematoxilina-eosina (H-E).

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Para el número, frecuencia y porcentaje de muestras positivas y negativas, se aplicó estadística descriptiva y para la comparación entre grupos se aplicaron análisis de varianza y prueba de Tukey.

MORBILIDAD Y MORTALIDAD

Durante el transcurso de la prueba se anotaron la presencia de signos clínicos y de mortalidad de cada etapa productiva del animal para su posterior análisis.

EXPERIMENTO 2

Para evaluar el efecto de la segregación de la descendencia , se aplicó en el sitio 1 un esquema de inmunización a las hembras nulíparas a las 5 y 2 semanas preparto y posteriormente se seleccionaron al azar 40 animales procedentes de la hembras mencionadas, para evaluar el efecto de la vacunación en la descendencia.

Se tomo una muestra sanguínea a a la edad de 7, 35, 65, 95, 125 días de edad y se detectó además la presencia de signos clínicos y mortalidad, así como

la evaluación de la lesión neumónica. De esta manera esperamos detectar el efecto segregación y vacunación sobre el control de la neumonía enzoótica en un sistema múltiple de producción en 3 sitios.

SEROLOGIA

Los sueros sanguíneos previamente congelados, fueron analizados mediante un ensayo inmunoenzimático (E.L.I.S.A. Tween 20) comercialmente conocida como Hypotest kit (Chekit Mh-test, Bommeli), que es una técnica con más del 90% de sensibilidad y especificidad. Los sueros fueron analizados en forma pareada de la misma manera que en el experimento 1. En la interpretación de los resultados los valores de las muestras se refieren a los controles positivos y se expresan en tanto por ciento como se menciona en el experimento 1.

LESIONES MACROSCÓPICAS

Una vez que los animales alcanzaron su peso comercial y fueron llevados a sacrificio, se realizó una inspección de las canales en el rastro para evaluar el grado de lesión pulmonar y referir esos datos con el resto de los resultados.

LESIONES MICROSCÓPICAS

A partir de la inspección a rastro, se tomaron muestras en formalina al 10% de aquellos pulmones que mostraron lesiones sugestivas a neumonía enzoótica, para ser evaluados histológicamente por medio de la tinción de hematoxilina-eosina (H-E).

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Del número, frecuencia y porcentaje de muestras positivas y negativas, se aplicó estadística descriptiva y para la comparación entre grupos se aplicaron análisis de varianza y prueba de Tukey.

VII. RESULTADOS

EXPERIMENTO 1

Serología.

Al realizar el experimento 1, donde el objetivo fue conocer el comportamiento serológico para *M. hyopneumoniae* en un sistema múltiple de producción porcina en tres sitios, hubo seronegatividad del 100% en la progenie desde los 7 (correspondientes al sitio 1) hasta los 34 días de edad (sitio 2). A partir del día 72 (sitio 3) comenzaron a presentarse animales sospechosos y los seropositivos al día 95 en un 4%. Se detectó finalmente 72.5% de seropositivos a la edad a rastro que fue de 152 días (Cuadro 1).

En el cuadro 2 se observan los valores promedios de la serología, obtenidos con la prueba de E.L.I.S.A. para las diferentes edades. A los 7 días se encontró un valor de 17.95 para ir aumentando progresivamente hasta la etapa de engorda, donde a los 125 días se detectó el valor que cae en el rango de seropositividad.

Morbilidad y Mortalidad.

Durante el tiempo que duró la prueba no hubo mortalidad en ninguno de los animales de la progenie involucrados en el experimento, sin embargo, en el sitio 3 se presentaron cuadros clínicos de neumonía caracterizados por tos crónica y retraso del crecimiento principalmente. La morbilidad fue de moderada a elevada en el sitio 3.

Ganancia diaria de peso.

Al obtener los pesos de la progenie, se observó que éstos fueron aumentando gradualmente en cada etapa productiva hasta alcanzar un peso promedio final del 94.91 kg a rastro (Cuadro 3).

Lesiones macroscópicas.

La evaluación de las lesiones macroscópicas realizadas en el rastro fue a los 152 días de edad: De 32 animales inspeccionados, se obtuvo una prevalencia de neumonía del 29.09% con una severidad del 3.74%. Cabe señalar que en el 100% de los animales evaluados se detectó lesión pulmonar en diferente porcentaje y lo más destacado fue la presencia de casos extremos de neumonía que son aquéllos que se encuentran por arriba del 10% de lesión pulmonar. Asimismo, se detectó 2.72% de pleuritis y 1.87% de neumonía de tipo abscedativo (Cuadro 13).

Lesiones microscópicas.

Se tomaron muestras pulmonares de lesiones sugestivas a neumonía enzoótica para estudio histopatológico de 5 animales afectados macroscópicamente. Se reportó daño pulmonar asociado a *M. hyopneumoniae*: hiperplasia del tejido linfoide peribronquial e infiltración moderada de células inflamatorias mononucleares en el parénquima pulmonar. En algunos casos se observaron varios focos de necrosis con infiltración de células inflamatorias de polimorfonucleares (neutrófilos) rodeados por abundantes fibroblastos, que corresponden a lesiones de una neumonía de tipo abscedativo grave multifocal.

Análisis estadístico.

Se obtuvo el número, frecuencia y porcentaje de animales positivos y negativos que se muestran en el cuadro 1 de cada grupo de muestras analizadas. Los pesos y ganancias obtenidos presentaron una significancia estadística ($p < 0.05$) entre grupos y una regresión lineal positiva (cuadro 3).

En el cuadro 4 se observa que hubo correlación obtenida entre las variables peso-edad, peso-ganancia, edad-ganancia, edad-valor y valor-ganancia.

EXPERIMENTO 2

Serología

Cuando se implementó la vacunación en el pie de cría, se llevaron a cabo los muestreos serológicos a los 7, 35, 72, 90 y 125 días de edad. Se detectó seropositividad del 14.28% a los 7 días de edad, correspondiente al sitio 1 y en el sitio 2 a los 35 días 70% de seropositivos (Cuadro 5). A la edad de 72 días se detectó 2.5% de positivos (Cuadro 6). Cabe señalar que con base a los resultados del experimento 1 donde se observó que el sitio 3 fue la etapa de riesgo, en el experimento 2 se intercalaron 3 sangrados más (entre 100 y 125 días de edad) para hacer un escrutinio más detallado en esa etapa de engorda y se encontró un decremento en la positividad global del 2.5%. Se finalizó con 30 y 52.5% de positividad a los 125 y 140 días de edad respectivamente (Cuadro 4,7 y 8).

En el cuadro 9 se observa los valores promedio de la serología, basados en la prueba de E.L.I.S.A. A los 7 días comienza con un valor de 35.67 para convertirse en positivo a los 35 días. Posteriormente el valor decrece al rango de negatividad hasta nuevamente ser un valor positivo a la edad de 140 días.

Ganancia diaria de peso.

Las ganancias diarias de peso y los pesos globales obtenidos en cada etapa y sitio, fueron superiores en relación a los del experimento 1. En el sitio 3, a los 95 días de edad, la progenie obtuvo 0.528 kg y 0.533 kg de ganancia diaria de peso antes y después de la vacunación respectivamente (Cuadro 10 y 11).

Lesiones macroscópicas.

Se revisaron 41 animales y se encontró que en 8 de ellos hubo un porcentaje de lesión neumónica del 2 al 5% y en uno hasta del 12%. Se reportó además, una prevalencia de 9 animales afectados que representó un 18% con 82% sin lesión y una severidad del 0.80%. Cabe señalar que en esta evaluación

de animales vacunados se redujo el porcentaje de lesión pulmonar así como el grado de severidad, además de que no se reportaron hallazgos de pleuritis ni de lesiones pulmonares sugestivas a otros agentes bacterianos (Cuadro 13). Otros hallazgos macroscópicos observados en los animales evaluados en el rastro fueron fibrosis y manchas de leche hepáticas en un porcentaje menor al 10%.

Lesiones microscópicas.

Se tomaron muestras pulmonares de 5 de los 9 animales afectados macroscópicamente. Las lesiones reportadas se asociaron a *M. hyopneumoniae*. No se detectaron lesiones sugestivas de neumonía provocadas por agentes bacterianos secundarios.

Análisis estadístico.

De cada grupo de muestras analizadas, se obtuvo el número, frecuencias y porcentajes de animales positivos y negativos que se muestran en los cuadros 3, 4, 5 y 6. Los pesos y ganancias presentaron una significancia estadística ($p < 0.05$) entre grupos (cuadros 10 y 11).

En el cuadro 12 se observa la correlación obtenida entre las variables peso-edad, peso-ganancia, edad-ganancia, edad-valor y valor-ganancia

Cuadro 1. Serología realizada en un sistema múltiple de producción porcina en tres sitios para *Mycoplasma hyopneumoniae* Experimento 1.

Edad (días)	Negativos		Sospechosos		Positivos	
	No.	%	No.	%	No.	%
7	40	100	0	0	0	0
20	40	100	0	0	0	0
34	40	100	0	0	0	0
72	40	38	95	2	5	0
95	40	24	60	12	30	4
125	40	10	25	12	30	18
152	450	5	12.5	6	16	29
						72

Cuadro 2. Valores promedio obtenidos mediante la técnica de E.L.I.S.A. para *Mycoplasma hyopneumoniae* en un sistema múltiple de producción porcina en tres sitios

Experimento 1.

Días de edad	Valor Promedio (porcentaje en relación al testigo positivo)
7	17.95
20	14.99
35	15.7
72	26.71
95	46.54
125	184.96
152	87.9

Cuadro 3. Peso y ganancia diaria observada en un sistema múltiple de producción porcina en tres sitios durante la serología realizada para *Mycoplasma hyopneumoniae* Experimento 1.

Edad (días)	Peso (kg)	Ganancia Daria (kg)
7	3.17	0.54
20	4.8	0.244
34	10.7	0.316
72	32.32	0.447
95	49.97	0.528
125	74.75	0.598
152	94.91	0.624

Cuadro 4. Correlación de variables antes de la vacunación contra *Mycoplasma hyopneumoniae* en un sistema múltiple de producción porcina en tres sitios Experimento 1.

VARIABLES	CORRELACIÓN
Peso-Edad	0.98
Peso-G.D.P.	0.83
Edad-G.D.P.	0.77
Edad-Valor	0.81
G.D.P.-Valor	0.67

Cuadro 5. Serología realizada en un sistema múltiple de producción porcina en tres sitios vacunado contra *Mycoplasma hyopneumoniae* Experimento 2 -I.*

Edad (días)	Negativos		Sospechosos		Positivos	
	No.	%	No.	%	No.	%
7	28	66.68	8	19.04	6	14.28
35	3	6.6	7	23.33	21	70.00

* Hasta esta epata productiva no se habían separado los grupos en multisitios.

Cuadro 6. Serología realizada en un sistema múltiple de producción porcina en tres sitios vacunado contra *Mycoplasma hyopneumoniae* Experimento 2-II.*

Edad (días)	No.	Negativos		Sospechosos		Positivos	
		No.	%	No.	%	No.	%
72	40	33	82.5	5	12.5	2	5.0
72	40	38	95	5	5.0	0	0
72	40	36	90	3	7.5	1	2.5
85	40	39	97.5	0	0	1	2.5
Global	160	146	91.25	10	6.25	4	2.5

* Los grupos fueron divididos en 4 sitios dos, diferentes.

Cuadro 7. Serología realizada en un sistema múltiple de producción porcina en tres sitios vacunado contra *Mycoplasma hyopneumoniae* Experimento 2-III.*

Edad (días)	No.	Negativos		Sospechosos		Positivos	
		No.	%	No.	%	No.	%
95	40	38	95	2	5		
100	40	38	95	1	2.5	1	2.5
105	40	38	95	1	2.5	1	2.5
116	40	30	75	4	10	6	15

* Los grupos continúan separados en 4 sitios dos, diferentes.

Cuadro 8. Serología realizada en un sistema múltiple de producción porcina en tres sitios vacunado contra *Mycoplasma hyopneumoniae* Experimento 2-IV.*

Edad (días)	No.		Negativos		Sospechosos		Positivos	
		%	No.	%	No.	%	No.	%
125	40		11	27.5	17	42.5	12	30
130	40		25	62.5	3	7.5	12	30
140	40		10	25	9	22.5	21	52.5

Cuadro 9. Valores promedio obtenidos mediante la técnica de E.L.I.S.A. en un sistema múltiple de producción porcina en tres sitios vacunado contra *Mycoplasma hyopneumoniae* Experimento 2.

Días de edad	Valor promedio (porcentaje en relación al testigo positivo)
7	35.67
35	70.0
72	32.97
95	32.31
100	24.52
105	32.53
116	42.22
125	64.4
140	73.82

Cuadro 10. Peso y ganancia diaria en un sistema múltiple de producción porcina en tres sitios vacunado contra *Mycoplasma hyopneumoniae* Experimento 2-I.

Edad (días)	Peso (kg)	Ganancia diaria (kg)
72	34.41	0.477
72	30.61	0.424
72	33.66	0.465
85	41.7	0.491

Cuadro 11. Peso y ganancia diaria en un sistema múltiple de producción porcina en tres sitios vacunado contra *Mycoplasma hyopneumoniae* Experimento 2-II.

Edad (días)	Peso (kg)	Ganancia diaria (kg)
95	49.47	0.533
100	55.38	0.556
105	59.1	0.562

**Cuadro 12. Correlación de variables después de la vacunación contra *Mycoplasma hyopneumoniae* en un sistema múltiple de producción porcina en tres sitios
Experimento 2.**

VARIABLES	CORRELACIÓN
Peso-Edad	0.625
Peso-G.D.P.	0.89
Edad-G.D.P.	0.22
Edad-Valor	0.08
G.D.P.-Valor	0.04

**Caudro 13. Evaluación a rastro de lesión y severidad pulmonar
prevacunación y posvacunación contra *Mycoplasma hyopneumoniae***

NEUMONIA	PREVACUNACION		POSVACUNACION	
% de lesión	número de animales		número de animales	
2		5		2
3		1		2
4				2
5		6		2
6				0
7				0
8		4		0
9				0
10		2		0
11				0
12		1		1
13		1		0
14				0
15		2		0
18		1		
20		2		0
22		1		
24		1		0
25		1		
26		1		
28				0
30		1		0
32		1		0
33				0
45		1		0
TOTAL		32		50
sin lesión		0%		41
prevalencia		29.09%		18%
severidad		3.74%		0.80%
pleuritis		2.72%		0%
neumonía				
abscedativa		1.81%		0%

VIII. DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

Dentro de las diferentes alternativas para el control y/o erradicación de problemas infecciosos del cerdo, se ha desarrollado la producción en sistemas de tres sitios ya sea simples o múltiples. Estos últimos son una opción en el control y erradicación de agentes infecciosos de enfermedades como leptospirosis, síndrome disgenésico y respiratorio del cerdo (P.R.R.S.) y Aujeszky. Se puede evaluar el efecto de este tipo de sistema sobre el comportamiento epidemiológico de la enfermedad o combinarlo con alguna otra estrategia como vacunación y/o medicación; de ahí el interés de analizar el comportamiento de *M. hyopneumoniae* en este tipo de sistema aplicando un biológico inactivado como una estrategia de control para la neumonía enzoótica.

Al analizar los resultados obtenidos en el experimento 1, se observó que cuando no se vacunaba contra *M. hyopneumoniae*, los animales fueron seronegativos en el sitio 1 y 2, mientras que en el sitio 3 a la edad de 95 días comenzaron a seroconvertir el 10%, para encontrarse finalmente un 72.5% de seropositivos a los 152 días o sea al peso de mercado. Esto nos indica que debido al sistema de producción la infección por *M. hyopneumoniae* se modifica, lo que se puede relacionar al poco contacto que existe entre el lechón y la cerda, lo que ocasiona una disminución en la colonización de las mucosas del primero. También hay que tener en cuenta que el sistema trabaja con base a producción por semana lo que evita la mezcla de animales de diferentes edades y se reduce el riesgo de infección. Al disminuir el contacto de animales se genera una exposición tardía al agente, pero no hay que ignorar el hecho de una posible infección horizontal en la granja que puede ser contaminada a través de reservorios de la enfermedad (pájaros, etc).

Por lo que respecta a la seroconversión de 72.5% que se presentó en el sitio 3 correspondiente a la etapa de engorda, puede deberse al número de animales por granja y nave (aproximadamente 900 animales) así como al continuo contacto con el microorganismo, que nos indica una infección activa en la granja. Se puede determinar al sitio 3 como el lugar crítico de la neumonía enzoótica; por lo que al analizar el programa de medicina preventiva que sigue la granja, éste se ajustó para hacer el uso de la vacuna contra *M. hyopneumoniae*.

En el experimento 2, cuando se llevó a cabo la implementación de la vacunación, se inició en las hembras a las 5 y 2 semanas antes del parto. Una vez que todas las hembras nulíparas recibieron las 2 vacunaciones, se les aplicó un refuerzo a las 3 semanas preparto al entrar al ciclo de producción.

Al evaluar el comportamiento de la progenie de las hembras vacunadas, se detectó una seroconversión a partir de los 7 días de edad (sitio 1) en un 14.28% y se alcanzó el pico a los 35 días (sitio 2) (70%), para después encontrar en el sitio 3 a los 116 días un 15% y 30% a los 130 días. Esto nos indica que la vacunación generó el desarrollo de anticuerpos en la hembra que fueron capaces de transmitirse a la descendencia y persistir en un 2.5% a los 72 días de edad, para comenzar a incrementarse al ingresar los animales a un área de mayor contacto y densidad poblacional como lo es la engorda (Gráfica 1). Esto coincide con lo reportado por Reynaud *et al.* (45) que menciona que al vacunar hembras a las 6 y 2 semanas preparto, la progenie muestra altos títulos de anticuerpos con duración de 2 meses que fueron detectados mediante el ensayo inmunoenzimático de E.L.I.S.A.

Cabe mencionar que con base al experimento 1 donde se detectó que la seroprevalencia de la enfermedad fue crítica en el sitio 3, cuando se implementó la vacunación se decidió intercalar 3 sangrados más entre los 95 y 125 días para

tratar de definir mejor qué era lo que sucedía en esa etapa productiva y se encontró que fue a los 100 días cuando hubo un 2.5% de seroconversión para alcanzar un 15% a los 116 días de edad. Esto coincide con Yagihashi *et al*, (56) quienes mencionan que la alta prevalencia de anticuerpos contra *M. hyopneumoniae* es de los 3 a 4 meses, lo que sugiere que esta etapa de vida del animal debe ser el indicado para determinar el grado de prevalencia de neumonía enzoótica.

De acuerdo a los resultados observados, la detección del porcentaje de animales positivos en la etapa de engorda se redujo al vacunar. Lo anterior indica que la vacunación en el pie de cría y el sistema de producción reducen la colonización del agente en el lechón, que puede desencadenar la enfermedad severamente en la etapa de engorda. Se pretende además, provocar una seroconversión en la piara y con ello una inmunidad de hato, para que cuando lleguen los animales a la etapa crítica (sitio 3) sean menos susceptibles.

Al comparar los valores promedio obtenidos mediante la técnica de E.L.I.S.A., se observa que antes de la vacunación de los 7 a los 95 días fueron menores al 50% que corresponde al rango de negatividad, para convertirse drásticamente a valor positivo a los 125 días. Esto indica la etapa de seroconversión con una marcada seropositividad. Cuando se aplicó la vacunación, los valores fueron positivos a los 35 días para ir decreciendo y volver a elevarse a los 105 días de edad y ser positivos a los 140 días, lo que puede indicar que la infección por *M. hyopneumoniae* se comportó de manera gradual (Gráfica 2).

En un estudio realizado por Flores *et al*. (14) en una granja de ciclo completo en México, se analizó el comportamiento serológico de infecciones naturales por *M. hyoneumoniae*. Se detectó 40% de seropositivos a partir de los 90 días de edad y 60% de seropositivos a peso a rastro, con lo cual se pudo

determinar la etapa de riesgo para tomar medidas de control. Con esto se observa que la edad en la que se detectó la seroconversión en la granja convencional y en del sistema múltiple de 3 sitios fue similar (90 días), pero se detectó un porcentaje más elevado de seropositivos en la primera, lo que indica la influencia que ejerce un sistema de tres sitios en la transmisión y comportamiento serológico de la enfermedad. Asimismo, en una publicación de Monroy *et al.* (34) al evaluar la seroconversión en la progenie de hembras primerizas y múltiparas, se menciona que la inmunidad pasiva en la progenie de las múltiparas proporciona una inmunidad sólida que protege al lechón del contagio de su madre y de otros lechones al destete que se refleja en una ganancia diaria de peso mejor.

En relación a la prueba de E.L.I.S.A. Tween 20, se observó con estos experimentos, su sensibilidad y especificidad para detectar anticuerpos por tiempos prolongados como se ha publicado para infecciones experimentales. Se publica que al emplear la mencionada técnica para determinar la duración de anticuerpos, la seroconversión se detecta entre los 90 y 150 días de edad (20,57). Asimismo Bereiter *et al.*(33) menciona que se pueden detectar anticuerpos hasta por 52 semanas en inoculaciones experimentales, cosa que no sucede con técnicas como fijación de complemento (F.C.) la cual no detecta anticuerpos más allá de 5 meses. Esto coincide con publicaciones que informan acerca de la detección temprana de anticuerpos, ya que Piffer *et al.* (67) y Ross (2) mencionan que pueden detectarse anticuerpos desde las dos semanas postinfección, así como Wallgreen *et al.* (58) que detectó anticuerpos alrededor de los 10 días postinoculación. Es importante recordar que con la técnica de E.L.I.S.A. Tween 20, no existen riesgos de inmunidad cruzada con *M. flocculare*.

Nicolet y Bruggman (35) mencionan que al utilizar la técnica de E.L.I.S.A. en muestras de suero y calostro en hembras libres de patógenos específicos (S.P.F.), no hubo seroconversión. Sin embargo detectaron un 18.5% de positivos

en suero y 41% en calostro de granjas infectadas, por lo que menciona a esta técnica como una herramienta útil en el diagnóstico de *M. hyopneumoniae*. Por lo que se acepta que la técnica de E.L.I.S.A. Tween 20 es una técnica diagnóstica confiable para estudios seroepidemiológicos para *M. hyopneumoniae*.

Es conocido que las pérdidas económicas se asocian con las enfermedades respiratorias por una reducción en la ganancia diaria de peso (G.D.P.) y esto es proporcional a la severidad de la lesión pulmonar (59). Debido a esto es importante evaluar la presencia de lesión neumónica, así como el porcentaje de la misma y tratar de determinar el efecto que la vacunación tuvo sobre ello.

Al realizar la evaluación a rastro en el experimento 1 (sin vacuna), se observó un incremento en la severidad a neumonía y en la prevalencia de la misma, ya que ésta fue de 3.74% y 29.09% respectivamente. Lo más relevante en los hallazgos en rastro, fue la presencia de casos extremos de neumonía que son aquéllos que se encuentran por arriba de un 10% de lesión, lo cual representa un efecto sobre la ganancia diaria de peso y la conversión alimenticia. Se encontraron además lesiones pulmonares de tipo abscedativo y pleuritis que se pueden asociar a la presencia de otros agentes secundarios para cuadros neumónicos como *Pasteurella multocida*.

En el experimento 2 (con vacuna) se observó una marcada diferencia, ya que la prevalencia de neumonía fue de 9% y la severidad de 0.80%, se mostró una reducción en ambos parámetros y también el porcentaje de lesión fue máximo de 5% solamente en 2 animales. Esto puede asociarse a la estrategia de vacunación aplicada en este sistema de producción.

Estos resultados indican que la vacunación tuvo un efecto positivo sobre el grado de lesión pulmonar y severidad presente en la granja al disminuir estos parámetros y mejorar la G.D.P. y C.A.. Asimismo, se redujo la presencia clínica de *M. hyopneumoniae* en el hato y no se detectaron lesiones de pleuritis y neumonía sugestiva de otras bacterias como *Pasteurella multocida* en la evaluación de lesiones macroscópicas en rastro.

La presencia del *M. hyopneumoniae* es determinante en las pérdidas económicas que se detecta en el área de engorda ya que se ha publicado que el vacunar animales de 7 y 21 días de edad, conlleva a la reducción de los signos y lesiones contra el mycoplasma y también para otros agentes como *Actinobacillus pleuropneumoniae* (24,60).

El efecto de la vacunación sobre el grado de lesión neumónica en la etapa de engorda, concuerda con una publicación de Yagihashi *et al.* (56) quienes mencionan que en animales de 4 a 6 meses de edad es donde hay una máxima seropositividad y asimismo se encuentra correlación con la lesión neumónica, ya que de 3 a 4 meses de edad es cuando comienza la infección. Dohoo y Montgomery (61) mencionan que al evaluar el efecto vacunación sobre la lesión neumónica y pleuritis a nivel de rastro, la prevalencia fue de 36% en animales vacunados contra el 69% en animales no vacunados y la pleuritis disminuyó de 20 a 13%.

Con relación a las ganancias diarias de peso (G.D.P.), en el experimento 1 se observó un incremento gradual en cada etapa productiva que de acuerdo a los parámetros establecidos por el NRC se encuentran dentro de lo esperado. Se detectó una diferencia ($p < 0.05$) entre grupos y una correlación positiva ($p < 0.05$). En relación al experimento 2 con el experimento 1, se muestra el incremento en los pesos y G.D.P. en el área de engorda (Gráfica 3). Esto concuerda con autores

como Muñoz *et al.* (62) que al evaluar animales vacunados y no vacunados en diferentes sistemas de producción señala la mejoría en la G.D.P. y C.A. También menciona valores superiores para ambos parámetros en granjas de 2 y 3 sitios vacunadas, pero sólo mejoría de C.A en granjas de ciclo completo vacunadas, además de producir un decremento de lesiones pulmonares en rastro. Se mencionan situaciones similares en cerdos vacunados a las 10 semanas de edad que es el comienzo de la etapa de engorda (63,64).

Por otra parte, se han publicado comparaciones entre la vacunación y la medicación para el control de *M. hyopneumoniae*. Al utilizarlas por separado, provocan una disminución de la neumonía de manera similar, pero ninguna de las dos elimina a *M. hyopneumoniae* y *P. multocida* del tejido pulmonar, sin embargo, la vacunación en relación a la medicación, tiene un mejor efecto sobre la disminución de la lesión y la G.D.P. , por lo que se concluye que desde el punto de vista económico y médico, la vacunación es la mejor opción (65).

Los resultados de este trabajo aportan una opción para obtener inmunidad de hato a través de la inmunización del pie de cría, ya que las publicaciones hasta ahora, básicamente se orientan a la inmunización de los lechones entre la 1ª y 3ª semana de edad. En relación a este calendario se han publicado protecciones hasta del 90% en el desarrollo de lesiones pulmonares. Las limitantes que tienen son la determinación del momento óptimo de la vacunación del lechón, que debe basarse en la detección de la concentración de anticuerpos en la hembra y en conocer los títulos protectivos para *M.hyopneumoniae*. Se recomienda además conocer la concentración inicial de anticuerpos en la hembra para poder predecir por cuanto tiempo persistirán en la descendencia (21).

Deben considerarse los factores mencionados, ya que la inmunidad pasiva puede interferir y neutralizar al antígeno vacunal. Con base a esto, la vacunación

del lechón puede ser retrasada si una alta concentración de anticuerpos se detectan en la hembra, lo que confirma que a través de ésta puede alcanzarse esa inmunidad suficiente para el control de la enfermedad. Además, los costos por inmunización a la descendencia tienden a ser más considerables a que si sólo se aplica en el pie de cría, debido al número de animales totales que se manejan en el ciclo de producción. La vida promedio de los anticuerpos es de 16 días con lo cual los lechones quedarían expuestos a *M. hyopneumoniae* tempranamente al perder la inmunidad activa (21). Cabe recordar que para determinar la duración de la inmunidad en el lechón, una estrategia óptima debe ser designada, por lo que saber cuándo un cerdo comienza a ser susceptible a la infección es algo importante para entender la edad en la cuál puede ocurrir la infección natural a *M. hyopneumoniae*.

Con base en los resultados y discusión de este trabajo, se concluye que un programa de control que consiste en vacunar a las hembras a las 5 y 2 semanas preparto aplicado en un sistema múltiple de producción porcina en tres sitios:

Representa una opción en lo referente al uso de calendarios de vacunación para el control de neumonía enzoótica.

Permite una seroconversión de hasta por dos meses en la descendencia sin desaparecer totalmente la seropositividad.

Favorece que al ingresar los animales al área de engorda puedan manifestar un incremento de anticuerpos necesarios para enfrentar el microbismo del área, el contacto entre cerdos y la densidad poblacional.

Provoca la reducción en la prevalencia de la neumonía enzoótica y de otras enfermedades respiratorias en el hato y de sus efectos sobre los parámetros

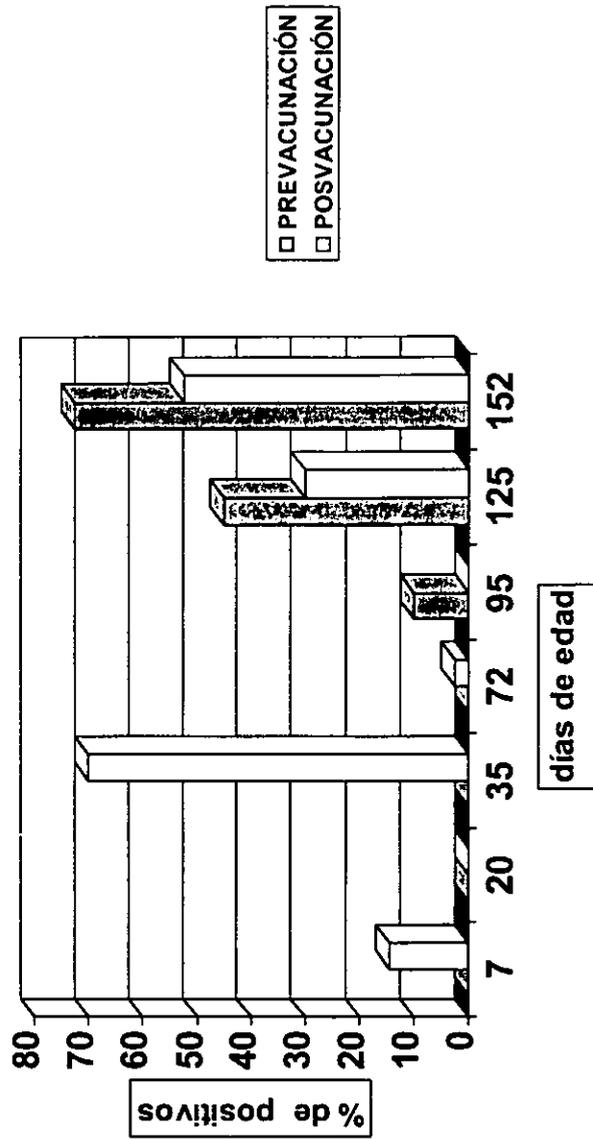
productivos, ya que reduce la severidad de la neumonía, así como de la pleuritis y lesiones provocadas por enfermedades secundarias, con la mejoría de la conversión alimenticia.

La segregación de la descendencia permite localizar y controlar una edad afectada en particular por sitio, que en este caso fue la engorda, sin la necesidad de llevar a cabo acciones como la despoblación total del sistema, que representaría un costo muy elevado.

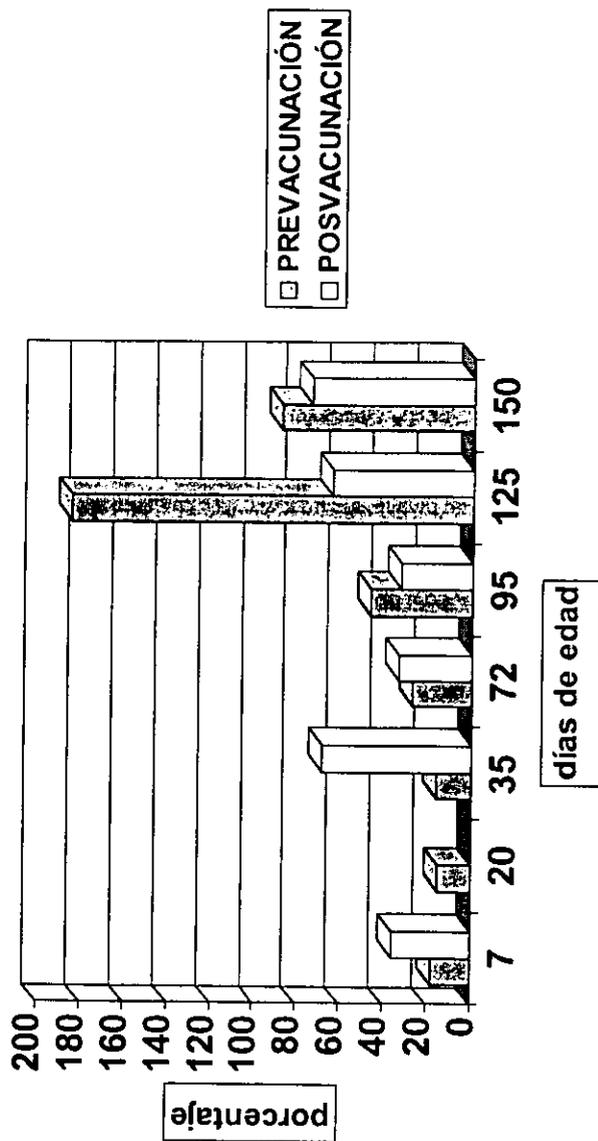
Las estrategias de vacunación y segregación de la progenie, permite a la vez la posibilidad de llevar a cabo en un futuro un programa de eliminación de la enfermedad por sitios de producción.

Además, hay que recordar que antes de usar una vacuna debe considerarse la severidad de la neumonía y realizarse evaluaciones de pulmones a nivel de rastro para determinar el efecto de ésta sobre el crecimiento de los animales, para posteriormente evaluar la eficacia de la vacuna una vez que se ha decidido su uso (61).

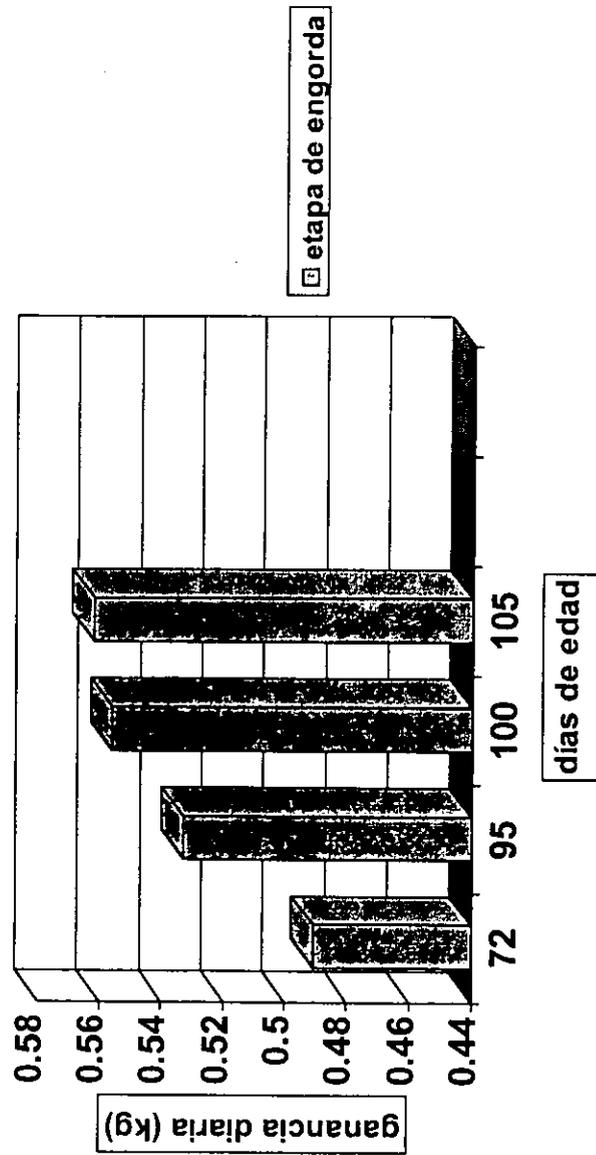
Gráfica 1. Comparación del comportamiento serológico positivo antes y después de la vacunación contra *Mycoplasma hyopneumoniae* en un sistema múltiple de producción porcina en tres sitios.



Gráfica 2. Valores promedios obtenidos con la prueba de E.L.I.S.A. antes y después de la vacunación contra *Mycoplasma hyopneumoniae* en un sistema múltiple de producción porcina en tres sitios.



Gráfica 3. Ganancia diaria de peso en el sitio 3 después de la vacunación contra *Mycoplasma hyopneumoniae*.



IX. REFERENCIAS

- 1.- Garcia RO. Neumonía enzoótica porcina. *Síntesis Porcina* 1984;3:37-39.
- 2.- Ross RF. Mycoplasmal diseases. *Diseases of Swine*, Edited by: Leman, A.D., Straw, B.E. Mengeling, W.L. Allaire, S. and Taylor, D.J. 537-543 Iowa State University Press Ames Iowa USA .1992.
- 3.- Clark LK, Armstrong CH, Freeman MJ, Scheidt AB Sands-Freeman L, Knox K. Investigating the transmission of *Mycoplasma hyopneumoniae* in a swine herd with enzootic pneumonia. *Vet Med* 1991; 40:543-550.
- 4.- Ciprian CA, Mendoza ES. Neumonía enzoótica, diagnóstico, control y prevención. *Porcira* 1983;150:38-50.
- 5.- Pejsak Z, Tarasiuk K, Cazin P. Vaccination against mycoplasmal pneumonia a field study on respishure. *Proceedings of International Pig Veterinary Society Congress, 1992 august 17-20; The Hague, The Netherlands. IPVS, 1992:325.*
- 6.- Ross RF, Young TF. The nature and detection of mycoplasmal immunogens. *Vet Microbiol* 1993; 37:369-380.
- 7.- Levisohn H. Mycoplasmas in veterinary medicine I. The role of Mycoplasmas in animal diseases. *Isr J Vet Med* 1992;47:1-5.
- 8.- Rosenbusch RF. Biology and taxonomy of the Mycoplasmas. *Mycoplasmosis in animals: Laboratory Diagnosis*. Ed. by Iowa State University Press, 1994.
- 9.- Switzer W. Micoplasmosis. *Enfermedades del cerdo* , Edited by Howard W. and Dunne. 2a. edición.537-546 UTEHA México 1995.
- 10.- Rosendal S. Pathogenesis of bacterial infections in animals. Ed. by Iowa State University Press 1993, 297-311
- 11.- Ross RF. Pathogenetic factors in, and pathogenesis of, mycoplasmal pneumonia. *Proceedings of Allen D. Leman Swine Conference, University of Minnesota, 177-179 (1996).*
- 12.- Fernald GW. Humoral and cellular immune responses to *Mycoplasma*. *The Mycoplasmas*. Edited by Tully, J.G. and Whitcomb, R.F. 399-421 Academic Press New York, U.S.A. 1979.

- 13.- Messier S, Ross RF, Paul PS. Humoral and cellular immune responses of pigs inoculated with *Mycoplasma hyopneumoniae* . Am J Vet Res 1990; 51:52-57.
- 14.- Flores SA. Estudio seroepidemiológico (transversal) de *Mycoplasma hyopneumoniae* mediante la técnica de ELISA en una granja porcina de ciclo completo ubicada en Zacatepec, Puebla (tesis). México (DF): Univ Nacional Autónoma de México, 1997.
- 15.- Domenech J, Poveda JB, Fernandez A, Valera N, Portero JM, Villalba EJ, Martín de las Mulas J. Aislamiento e identificación de *Mycoplasma hyopneumoniae* a partir de lesiones neumónicas de cerdos de abasto. Med Vet 1993 10:338-342.
- 16.- Messier S, Ross RF. Interactions of *Mycoplasma hyopneumoniae* membranes with porcine lymphocytes. Am J Vet Res 1991;52:1497-1501.
- 17.- Adegboye DS. The immunological response of pig bronchial lymph node to *Mycoplasma hyopneumoniae*. J Comp Path 1978; 88:97-104.
- 18.- Young TF, Chiang YW, Ross RF. Evaluation of local and systemic humoral immune responses to *Mycoplasma hyopneumoniae*. Proceedings of International Pig Veterinary Society Congress; 1990 July 1-5; Lausanne, Switzerland: IPVS, 1990: 97.
- 19.- Strasser M, Abiven P, Kobish M, Nicolet J. Immunological and pathological reactions in piglets experimentally infected with *Mycoplasma hyopneumoniae* and/or *Mycoplasma flocculare*. Vet Imm and Immunopathology 1992;31:141-153.
- 20.- Sheldrake RF, Gardner IA, Saunders MM, Romalis LF. Serum antibody response to *Mycoplasma hyopneumoniae* measured by enzyme linked immunosorbent assay after experimental and natural infection of pigs. Aust Vet J 1989; 67:39-42.
- 21.- Morris CR, Gardner IA, Sharon KH, Carpenter TE, Anderson RJ, Parker KM. Persistence of passively acquired antibodies to *Mycoplasma hyopneumoniae* in a swine herd. Prev Vet Med 1994; 21:29-41.
- 22.- Levonen K. Detection of enzootic pneumonia in pig herds using an enzyme-linked immunosorbent assay in sow colostrum. Research in Vet Sc 1994; 56:111-113.

- 23.- Zimmermann W, Bommeli W, Tshcudi P. Enzyme linked immunoassay of colostral milk for surveying enzootic pneumonia in SPF pig breeding herds. IVth Int Sym of Vet Lab Diagnosticians Amsterdam, The Netherlands, 1986, 316-319.
- 24.- Morris CR, Gardner IA, Hietala SK, Carpenter TE, Anderson RJ, Parker KM. Seroepidemiologic study of natural transmission of *Mycoplasma hyopneumoniae* in a swine herd. *Prev Vet Med* 1995; 21:332-337.
- 25.- Miranda MRE. Aislamiento y caracterización de micoplasmas asociados con la neumonía enzoótica del cerdo (tesis). México, (DF): Univ Nacional Autónoma de México, 1986.
- 26.- Armstrong CH. Porcine mycoplasmas. *Mycoplasmosis in Animals: Laboratory diagnosis*. 120-145 Academic Press New York, U.S.A. 1979.
- 27.- Bruggmann S, Engberg B, Ehresperger, F. Demonstration of *M. suis pneumoniae* in pig lungs by the enzyme-linked immunoperoxidase technique. *Vet Rec* 1977;101:137.
- 28.- Doster RA, Chang LB. Identification of *Mycoplasma hyopneumoniae* in formalin-fixed porcine lung, using an indirect immunoperoxidase method. *Am J Vet Res* 1988;49:1719-1721.
- 29.- Stemke GW, Phan R, Young T, Ross RF. Differentiation of *Mycoplasma hyopneumoniae*, *Mycoplasma flocculare* and *Mycoplasma hyorhinis* on the basis of amplification of a 16SrRNA gene sequence. *Am J Vet Res* 1994;55:81-84.
- 30.- Eichwald D. *Mycoplasmosis de los Animales*. Ed. Acribia Zaragoza 1973 177-202.
- 31.- Kazama S, Yagihashi T, Seto K. Preparation of *Mycoplasma hyopneumoniae* antigen for the enzyme-linked immunosorbent assay. *Can J Vet Res* 1989; 53:176-181.
- 32.- Armstrong CH, Freeman MJ, Sands LL, Farrington DO. The enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) for diagnosing mycoplasmal pneumonia of swine. *Amr Assn Vet Lab Diag* 1978;377-390.
- 33.- Bereiter M, Young TF, Joo HS, Ross RF. Evaluation of the ELISA and comparison to the complement fixation test and radial immunodiffusion enzyme assay for detection of antibodies against *Mycoplasma hyopneumoniae* in swine serum. *Vet Microbiol* 1990; 25:177-192.

- 34.- Monroy M, Carreón NR, Doporto DJM, Gutiérrez JA. Estudio seroepidemiológico de *Mycoplasma hyopneumoniae* mediante la técnica de ELISA Tween 20. Tecnología Avípecuaria 1995;8:31-38.
- 35.- Nicolet J, Bruggman S. Tween 20 soluble proteins of *Mycoplasma hyopneumoniae* as antigen for an enzyme linked immunosorbent assay. Res Vet Sci 1980;29:305-309.
- 36.- Armstrong CH, Freeman MJ, Sands LL, Lopez OM, Runnels LJ. Comparison of the enzyme-linked immunosorbent assay and the indirect hemagglutination and complement fixation test for detecting antibodies to *Mycoplasma hyopneumoniae*. Can J Comp Med 1983; 47:464-470.
- 37.- Barfod K, Sorensen A. Surveillance for antibodies against *Mycoplasma hyopneumoniae* in SPF breeding and production herds. Proceedings of International Pig Veterinary Society Congress, 1992 august 17-20; The Hague, The Netherlands: IPVS, 1992:560.
- 38.- Sorensen V, Barfod K. Establishing of a *Mycoplasma hyopneumoniae* serological negative herd. Proceedings of International Pig Veterinary Society Congress; 1992; august 17-20; The Hague, The Netherlands: IPVS, 1992:316.
- 39.- Pijoan C. *Mycoplasma hyopneumoniae* infections interactions with other organisms. Solvay Vet Rep 1990, 3 1 4.
- 40.- Fernald G, Clyde WA. Protective effect of vaccines in experimental *Mycoplasma hyopneumoniae* disease. Inf and Imm 1970; 1:559-565.
- 41.- Duane AM, Van Alstine GV, Clark K, Albregts S, Knox K. Aerosol vaccination of pigs against *Mycoplasma hyopneumoniae* infection. Am J Vet Res 1993;54:1878-1880.
- 42.- Estrada R. Aspectos de la inmunización de cerdos contra *Mycoplasma hyopneumoniae* Síntesis Porcina 1991; 30: 24-25.
- 43.- Dayalud KI, Keich RL, Charlier P, Martinod S. Evaluation of the beneficial effects of a *Mycoplasma hyopneumoniae* vaccine (Respisure) results from controlled and field studies. Proceedings of International Pig Veterinary Society Congress, 1992 august 17-20; The Hague, The Netherlands: IPVS, 1992: 302.
- 44.- Harris DL. Application of age segregated rearing in one and multiple site pigs farms. Memorias de la primera Jornada en Producción Porcina México. 114-139 FMVZ-UNAM, México, D.F. (1994).

45.- Reynaud G, Brun A, Milward F, Lacoste F, Vandeputte J. Clinical results obtained with an inactivated vaccine against porcine mycoplasmosis. Proceedings of International Pig Veterinary Society Congress, 1992 august 17-20; The Hague Netherlands: IPVS, 1992:303.

46.- Vraa-Andersen L, Christensen G, Kuiper R. Vaccine efficacy trial with suvaxyn *Mycoplasma hyopneumoniae* on Denmark. Proceedings of International Pig Veterinary Society Congress, 1994 june 23-28; Bangkok, Thailand: IPVS, 1994:192.

47.- Stipkivits L, Miller DJS. Comparative studies of the efficacy of a *Mycoplasma hyopneumoniae* vaccines, lincomycin and tiamulin against experimental *Mycoplasma hyopneumoniae* infection of piglets. Proceedings of Am Ass Swine Pract Anual Meeting, Kansas USA 1993:17-28.

48.- Thomas P. The influence of housing design and one management systems on the health of the growing pig, particularly in relation to pneumonia. Conference of housing design and some managements systems 1984;5:343-349.

49.- Simon F, Semjen G, Dobos-Kovacs M, Laczay P, Oserep T. Efficacy of enrofloxacin against enzootic pneumonia in swine. Proceedings of International Pig Veterinary Society Congress, 1990 july 1-5; Lausanne,Switzerland: IPVS, 1990:96.

50.- Scheidt A, Froe TC, Mayrose V, Einstein M. The use of long acting oxitetracycline in two swine-herds, control of enzootic pneumonia. Proceedings of International Pig Veterinary Society Congress; 1990 july 1-5; Lausanne, Switzerland: IPVS, 1990:87

51.- Graham R, Lens S. Jansegers L. The effect of lincomycin as medicated feed on reduction of incidence and severity of mycoplasmal pneumonia in growing swine. Proceedings of International Pig Veterinary Society Congress, 1984 Belgium: IPVS, 1984:138.

52.- Friis NF. Szancer J. Sensitivity of Danish field isolates of *Mycoplasma hyopneumoniae* to antimicrobial compounds. Proceedings of International Pig Veterinary Society Congress, 1994 june 26-30; Bangkok, Thailand: IPVS, 1994:340.

53.- Kluge JP, Beran GW, Hill HT, Platt KB. Pseudorabies (Aujeszky Disease) In diseases of swine. 7th. Ed. Leman, A.D. 312-323 Iowa State University Press Ames Iowa USA 1992.

- 54.- Maya RJM. Despoblación-repoblación en granjas porcinas. Estudios recapitulativo. Tesis de Licenciatura. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia UNAM 1993.
- 55.- Carlson AR. SEW and *Mycoplasma hyopneumoniae*: Field experiences. Proceedings of Allen D. Leman Swine Conference University of Minnesota 180-186 (1996).
- 56.- Yagihashi T, Kazama S, Tajima M. Seroepidemiology of mycoplasma pneumonia of swine in Japan as surveyed by an enzyme-linked immunosorbent assay. Vet Microbiol 1993; 34:155-166.
- 57.- Petersen GR, Weiss D. Vaccination against *Mycoplasma hyopneumoniae* in swine. Pig Vet J 1993, 28: 35-39.
- 58.- Wallgren P, Schwan O, Mattson S, Bolske G. Comparison of the sensitivity of two ELISA systems for detection of antibodies to *Mycoplasma hyopneumoniae* in naturally infected pigs. Proceedings of International Pig Veterinary Society Congress, 1996 July 7-10; Bologna, Italy: IPVS, 1996:219.
- 59.- Hurnik D, Hanna PE, Dohoo IR. Evaluation of rapid gross visual appraisal of swine lungs at slaughter as a diagnostic screen for enzootic pneumonia Can J Vet Res 1993;57:37-41.
- 60.- Martinod S. Protection against *Mycoplasma hyopneumoniae* and *Actinobacillus pleuropneumoniae* infections using a Mycoplasma inactivated respisure under field conditions. Proceedings of International Pig Veterinary Society Congress, 1996 July 7-10; Bologna, Italy: IPVS, 1996:221.
- 61.- Dohoo IA, Montgomery ME. A field trial to evaluate a *Mycoplasma hyopneumoniae* vaccine: Effects on lung lesions and growth rates in swine. Can Vet J 1996;37:299-302.
- 62.- Muñoz A, Pallares FJ, Ramis G. Study of the effect of vaccination with stellamune *Mycoplasma* on enzootic pneumonia related clinical and productive parameters under field conditions. Proceedings of International Pig Veterinary Society Congress, 1996 July 7-10; Bologna, Italy: IPVS, 1996:229.
- 63.- De Jong MF, Jedema EJ, Sampimom O. *Mycoplasma hyopneumoniae* vaccination in 10 week old piglets results of a field trial. Proceedings of International Pig Veterinary Society Congress, 1996 July 7-10; Bologna, Italy: IPVS, 1996:220.

64.- Busse FW, Bohne I. Vaccination against enzootic pneumonia (EP) or *Mycoplasma* induced respiratory disease (MIRD) in two breeding farms. Proceedings of International Pig Veterinary Society Congress, 1996 July 7-10; Bologna, Italy: IPVS, 1996:234.

65.- Le Grand A, Kobish M. Comparaison de l'utilisation d'un vaccin et d'un traitement antibiotique sequentiel dans un elevage infecte par. *Mycoplasma hyopneumoniae* Vet Res 1996;27:241-25.

66.- Harris DL. Alternative approaches to eliminating endemic diseases and improving performance of pigs. Vet Rec 1988;123:422-423.

67.- Piffer IA, Young TF, Petenate A, Ross RF. Comparison of complement fixation test and enzyme-linked immunosorbent assay for detection of early infection with *Mycoplasma hyopneumoniae* Am J Vet Res 1984; 45:1122-1126.