PORCINO

Interacciones entre el virus del PRRS y *M. hyopneumoniae*

No sólo se ha estudiado el efecto aditivo que se produce por la interacción de estos dos agentes a nivel de su patogenicidad sino también en relación con su transmisión, infección y persistencia.

Eduardo Fano-González, Carlos Pijoan y Scott Dee.
Swine Disease Erradication Center.
University of Minnesota (USA).

Durante la última década *Mycoplasma hyopneumoniae* y el virus del Síndrome reproductivo y respiratorio porcino (PRRS) han sido considerados como dos de los principales agentes involucrados en los procesos de enfermedad respiratoria en animales en crecimiento. De hecho, ambos agentes son protagonistas del denominado Complejo respiratorio porcino (CRP), el cual como bien sabemos es un síndrome multietiológico, que resulta de la infección e interacción de varios patógenos respiratorios. El CRP está considerado como la principal causa de mortalidad y disminución de los rendimientos en cerdos durante su etapa de crecimiento y engorde. Por lo anteriormente expuesto, el entendimiento de los mecanismos de patogenicidad e interacción de los dos principales agentes de este síndrome ha sido causa de investigación.

Interacción entre los dos agentes

En base a la observación clínica de los cuadros respiratorios durante la fase de crecimiento y engorde, originalmente se manejó la teoría que la infección por el virus PRRS ocasionaba un incremento en la severidad del cuadro clínico ocasionado por *M. hyopneumoniae*. La anterior suposición se fundamentaba con la idea de que la infección del virus PRRS comprometía el sistema inmunológico del cerdo permitiendo que la neumonía por *M. hyopneumoniae* fuese más severa. En un estudio con el objetivo de determinar si esta aseveración era verdadera, Van Alstine y colaboradores (1996) trabajaron con un modelo de infección mixta en cerdos jóvenes, infectando los animales inicialmente con el virus del PRRS y siete días después con *M. hyopneumoniae*. La severidad de la infección mixta fue comparada con la observada en un grupo infectado nada más con *M. hyopneumoniae*. Finalmente ellos concluyen que bajo las condiciones experimentales presentadas en su estudio la infección por el virus del PRRS no incrementó la severidad de la infección producida por *M. hyopneumoniae*.

La infección por *M. hyopneumoniae* aparentemente no tiene un efecto sobre la transmisión aérea del virus del PRRS

Thacker y colaboradores (1999) en un estudio dirigido a esclarecer la interacción entre estos dos agentes, desarrollaron un modelo experimental donde evaluaron tres diferentes formas de interacción: los animales fueron inoculados con *M. hyopneumoniae* 21 días antes, simultáneamente y 10 días después de la inoculación con el virus del PRRS. El estudio concluye que inversamente a lo que se creía, la infección de *M. hyopneumoniae* prolonga y exacerba la enfermedad respiratoria inducida por el virus PRRS y también se plantea que dicho poder aditivo es independiente del momento de la infección viral. El mecanismo de cómo se da esta interacción aún no está muy claro, pero se han sugerido las siguientes teorías:

- La activación de linfocitos T y su producción de citoquinas proinflamatorias promueve y prolonga la respuesta inflamatoria (Thanawongnuwech et al, 2001). Se ha demostrado que en cerdos infectados con ambos agentes los niveles de IL-12 a los 42 días post-infección son superio-

res a los expresados por cerdos infectados sólo con PRRS (Thanawongnuwech et al, 2003). Este estudio sugiere la posibilidad de que los elevados niveles de IL-12 pudieran comprometer la habilidad del sistema inmune para eliminar el virus del PRRS de los pulmones. Esto podría explicar la prolongada presencia del virus y el incremento de neumonía en cerdos con la infección mixta.

- La habilidad de *M. hyopneumoniae* de reclutar macrófagos en el pulmón, podría permitir que el virus del PRRS persista en los pulmones a niveles bajos por periodos prolongados. Esto podría ser mediante la interacción con estas células (mayor replicación) o mediante la inducción de respuesta inflamatoria (Thacker et al, 1999).

Un dato muy interesante generado en este estudio es que los niveles en tejido pulmonar de los dos agentes no mostraron un incremento en los grupos con infección mixta comparados con los animales con la infección sencilla, ya sea para PRRSv o *M. hyopneumoniae*. Esto favorece la teoría que el efecto aditivo de *M. hyopneumoniae* es debido a la respuesta inflamatoria presentada durante el curso de esta enfermedad. Por otro lado le resta atención a la teoría que soporta la idea de que el aumento de la severidad y duración de la neumonía inducida por el virus del PRRS sea debido a un incremento de la replicación de este agente. Los hallazgos encontrados en esta investigación le otorgaron un interés especial a la interacción de estos agentes, por lo que el control de la micoplasmosis en los cuadros de CRP tomó prioridad. Después de la aparición de esta información, un par de estudios se llevaron a cabo con el objetivo de determinar si la vacunación frente a *M. hyopneumoniae* y/o el virus del PRRS eran capaces de disminuir la neumonía asociada a este último. Los dos estudios concluyeron de forma similar, describiendo que la vacunación frente a *M. hyopneumoniae* disminuye pero no elimina la potenciación de la neumonía inducida por el virus PRRS en las infecciones mixtas (Thacker et al, 2000; Silin et al, 2001). En el estudio de Thacker también se concluye que la vacunación frente al virus del PRRS o el desafío frente al virus de campo disminuye el efecto de la vacunación frente a *M. hyopneumoniae*. Y consideran que esto puede ser la explicación de los fallos vacunales en condiciones de campo; sin embargo no se tiene conocimiento exacto de cual sería el mecanismo que ocasiona el bloqueo del efecto de la vacuna.

Efecto aditivo sobre la transmisión, viremia y persistencia del PRRSv

La información generada en las investigaciones previamente citadas revela el efecto aditivo que tiene la infección de *M. hyopneumoniae* sobre la severidad y duración de la neumonía asociada al virus del PRRS, es decir que la información ha sido dirigida a los mecanismos de interación en términos de patogenicidad. Nuestro equipo recientemente realizó una serie de estudios encaminados a determinar si esta característica aditiva previamente descrita tiene efecto sobre las características epidemiológicas y virológicas del PRRS, tales como transmisión, viremia y persistencia.

En un estudio evaluamos la transmisión por aerosol de la infección mixta de *M. hyopneumoniae* y el virus del PRRS, donde se manejó la hipótesis que la transmisión aérea del virus del PRRS sería demostrable al intentar transmitir el agente desde una población sufriendo la infección mixta a un grupo de cerdos centinelas. Se llegó a esta hipótesis al tener el expediente de estudios previos realizados en esta misma universidad que no habían logrado demostrar la transmisión aérea utilizando un modelo de infección solamente con PRRSv. Esta hipótesis fue también fundamentada por los estudios que describen el efecto aditivo de *M. hyopneumoniae* sobre el virus del PRRS en términos patológicos. El objetivo del estudio fue determinar si la coinfección con *M. hyopneumoniae* favorece la transmisión aérea del virus del PRRS y para lograr este fin se utilizó un modelo que consistió en crear una población (n=60) infectada por ambos agentes. Los animales fueron inoculados y alojados en un edificio convencional de cebo (ventilación mecánica). Una vez demostrada la infección mixta en estos animales, dos grupos de centinelas alojados en pequeños "trailers" fueron situados en los laterales de la "nave infectada". El trailer A se colocó en el lado norte de la nave, a seis metros de los extractores que expulsaban el aire proveniente del interior de la "nave infectada" y para asegurarnos que los cerdos centinelas tuvieran una mejor exposición a los aerosoles generados en el interior de la nave, se conectó un tubo PVC de 10 centímetros de diámetro de uno de los extractores al interior del trailer. En el



CUADRO I. Dinámica de infección, seroconversión y viremia del virus PRRS en los animales inoculados, contactos directos y contactos indirectos. Co-infección con *M. hyopneumoniae*.

DE	DPI	Inoculados		Contactos directos		Contactos indirectos	
		PCR	Elisa	PCR	Elisa	PCR	Elisa
35	0	0/11	0/11	0/12	0/12	0/10	0/10
42	7	10/10	0/10	5/12	0/12	1/10	0/10
49	14	10/10	10/10	12/12	4/12	6/10	1/10
63	28	10/10	10/10	10/12	12/12	20/20	18/20
91	56	0/10	10/10	0/10	12/12	1/20	20/20
119	84	0/10	10/10	0/10	12/12	0/20	20/20
155	120	0/10	10/10	0/10	12/12	0/20	20/20

* Número de positivos/Número de muestreados. DE: días de ensayo. DPI: días post-infección

La dinámica de infección, viremia y persistencia del virus PRRS en coinfección con *M. hyopneumoniae* no presentan un patrón diferente al descrito en los estudios donde se evalúa sólo la infección vírica

lado sur de la "nave infectada" se colocó el trailer B a un metro de distancia de los extractores, permitiendo el contacto directo con el aire proveniente del interior de la nave (en este trailer no se utilizó tubo). Los animales centinelas fueron expuestos al aire de la nave infectada por siete días; después de esto los cerdos fueron trasladados a otras instalaciones a cumplir tres semanas de periodo de incubación. Al final de este periodo los animales fueron enviados al laboratorio de diagnóstico para determinar su estatus con respecto a los agentes en estudio. La transmisión por aerosol del virus del PRRS no fue demostrada, sin embargo si lo fue en el caso de *M. hyopneumoniae* (en los dos trailers), lo cual demuestra que el modelo utilizado funciona y pone de manifiesto que la transmisión vía aire del virus del PRRS puede ser un evento infrecuente o menos probable al compararse con otros agentes. Por lo tanto finalmente concluimos en este estudio que la infección por *M. hyopneumoniae* aparentemente no tiene un efecto sobre la transmisión aérea del virus del PRRS, al menos bajo las condiciones de este experimento.



Dinámica de infección, viremia y persistencia del PRRSv en animales infectados con *M. hyopneumoniae*

En otro estudio evaluamos la dinámica de infección, viremia y persistencia del virus PRRS en animales previamente infectados con *M. hyopneumoniae*. Para la realización de este estudio utilizamos 60 cerdos de dos meses de edad, provenientes de una fuente libre del virus del PRRS y *M. hyopneumoniae*. 28 cerdos fueron inoculados con *M. hyopneumoniae* por vía intratraqueal en el día 0 del estudio y en el día 35 los mismos animales fueron infectados intranasalmente con el virus PRRS. Los animales inoculados fueron colocados en 4 corrales diferentes (7 animales por corral). Doce cerdos fueron distribuidos en los 4 corrales ocupados por los animales inoculados (3 por corral) y fueron asignados como grupo "contacto directo". Los restantes 20 animales fueron ubicados en dos corrales independientes, pero localizados en la misma nave; estos cerdos fueron asignados como grupo "contacto indirecto".

Con el fin de evaluar la dinámica de infección, 12 animales inoculados, 12 contactos directos y 10 contactos indirectos fueron repetidamente evaluados para determinar su estatus de infección con respecto a los agentes en estudio.

La muestras recogidas fueron suero para PCR de PRRS y Elisa para ambos agentes e hisopos nasales. La infección por *M. hyopneumoniae* fue confirmada por la detección de anticuerpos específicos y por la detección del agente mediante una técnica de PCR anidado. Con respecto a PRRS, los resultados de la dinámica de infección y viremia se muestran en el **cuadro I**. El virus del PRRS mostró similar dinámica de infección y patrón serológico a los descritos en estudios previos donde se evalúa la infección única del virus (Otake et al, 2002; Batista, 2002). En los primeros 7 días post-infección hay evidencia de transmisión del virus a los animales asignados como contactos directos e indirectos. La viremia fue detectada hasta los 28 días post-infección, dato que queda dentro del rango descrito en diferentes estudios (28 a 42 días, dependiendo de la edad de los animales) (Batista et al, 2002; Shibata et al 200; van der Linden et al, 2003).

Para evaluar la persistencia del virus, los animales fueron enviados al matadero en tres diferentes fechas 120, 135 y 150 días post-inoculación. Muestras de tejidos (tonsila y linfonodo) fueron tomadas en cada animal y procesadas por PCR. Los resultados se muestran en el **cuadro II**. Se detectaron animales persistentemente infectados hasta los 150 días post-infección en baja proporción. Lo anterior concuerda con otro estudio donde se evaluó la persistencia del virus en animales exclusivamente infectados con PRRS (Wiulls et al, 2003).

Esta información parece indicar que características como la dinámica de infección, viremia y persistencia del virus PRRS en coinfección con *M. hyopneumoniae* no presentan un patrón diferente al descrito en los estudios donde se evalúa la infección sólo por PRRS. Quizá esta potenciación podría estar limitada a características individuales y no en términos de grupos de animales, y para demostrar esto hace falta más investigación que defina perfectamente cuál es el papel de esta interacción en términos de dinámica poblacional. ●

CUADRO II. Persistencia del virus del PRRS en animales infectados con *M. hyopneumoniae*.

Días PI	Inoculados directamente	Animales contactos*
120	4/8	0/6
135	0/9	0/6
150	2/9	0/6

* La proporción de los contactos directos y contactos indirectos se presenta junta.

Ponencia dictada en el XXXIX Congreso de la Asociación Mexicana de Veterinarios Especialistas en Cerdos. (Mazatlán, agosto de 2004) y publicada con autorización expresa.