

AISLAMIENTO E IDENTIFICACIÓN DE BACTERIAS DE PULMONES NEUMÓNICOS DE CERDO

M.V.Z., DIP. BACT., PH. D. CARLOS PIJOAN A.¹
M.V.Z. GILBERTO OCHOA U.¹
M.V.Z. FRANCISCO TRIGO²

Resumen

Se aislaron e identificaron las bacterias presentes en 140 pulmones neumónicos de cerdo y se relacionaron entre sí, y además con las lesiones macro y microscópicas por medio de cálculo estadístico. La bacteria más común fue *Pasteurella multocida* (27.1%), que además fue la que se relacionó estadísticamente con las lesiones de mayor intensidad.

Las neumonías de los cerdos parecen ser causadas por una multitud de agentes etiológicos que actúan en secuencia (Little, 1973). El control de esta enfermedad es normalmente muy difícil, ya que los tratamientos con antibióticos son por lo regular poco eficaces (Huhn, 1970). Por otro lado, los productos inmunizantes sólo pueden dar protección contra las bacterias que los constituyen. Por esto es de fundamental importancia determinar los agentes más comunes de la enfermedad, pues éstos parecen variar en cada país. (Little, 1973; Zwitter, 1974).

Material y métodos

Se obtuvieron 140 pulmones neumónicos y 12 no neumónicos del rastro de Ferrería, en un período comprendido entre abril y diciembre de 1974. Para el aislamiento de las bacterias, las muestras de los pulmones fueron sembradas en agar chocolate en atmósfera normal o con 10% de CO₂. Se intentó el aislamiento de micoplasmas, siguiendo las técnicas de Pijoan y Roberts (1971, 1973). Para el aislamiento de *Haemophilus* spp. se utilizaron los medios y técnicas recomendadas por Little (1973). La identificación de las bacterias se hizo de acuerdo al manual de Cowan y Steel (1974).

¹ Departamento de Bacteriología, Instituto Nacional de Investigaciones Pecuarias, SAG, km 15.5 Carretera México-Toluca, México, DF.

² Departamento de Fisiopatología, Instituto Nacional de Investigaciones Pecuarias, SAG, km 15.5 Carretera México-Toluca, México, DF.

Los pulmones también fueron estudiados desde el punto de vista patológico. Por un lado las lesiones macroscópicas fueron calificadas con el siguiente sistema de puntos: Cada lóbulo afectado se calificó de 1 a 5, dependiendo de la extensión de la lesión, y el total del pulmón fue dado por la suma de los puntos de todos los lóbulos. Después, las lesiones se agruparon en tres clases: A para lesiones de 0 a 5 puntos de severidad; B para las de 5 a 10 y C para las de 10 o más puntos.

Se fijó un trozo de área neumónica de cada pulmón en formol al 10%, el cual posteriormente fue incluido en parafina, cortado a 6 micras de espesor y teñido con Hematoxilina-Eosina y Giemsa siguiendo técnicas comunes.

Para relacionar entre sí las bacterias aisladas, y a éstas con las diversas lesiones patológicas, se usó un cálculo de coeficiente de correlación, aplicando el programa "Statistical Analysis System" (Barry y Goodnight, 1972).

Resultados y discusión

Del 20.58% de los pulmones neumónicos y de todos los pulmones no neumónicos no se obtuvieron aislamientos bacterianos. En el 79.42% de pulmones neumónicos se aislaron las bacterias que se indican en el Cuadro 1.

Se puede ver que las bacterias más comúnmente aisladas fueron *Pasteurella multocida* y *Pasteurella haemolytica*, así como una variedad de estreptococos, estafilococos y corinebacterias; *E. coli* y *C. murium*. En ningún caso se aislaron micoplasmas o *Haemophilus*.

CUADRO 1

1 Bacterias aisladas de pulmones neumónicos

BACTERIA	% de aislamientos*
<i>Pasteurella multocida</i>	27.1
<i>Pasteurella haemolytica</i>	10.0
<i>Streptococcus spp.</i>	9.28
<i>Escherichia coli</i>	8.57
<i>Corynebacterium murium</i>	6.41
<i>Staphylococcus spp.</i>	5.71
<i>Corynebacterium spp.</i>	5.0
<i>Alcaligenes bronquisepticus</i> ¹	1.42
<i>Klebsiella aerogenes</i>	1.42
<i>Streptococcus pyogenes</i>	.71
Otros	4.1
Sin bacterias	20.52

* Los porcentajes no suman 100, porque varios pulmones tenían dos o más bacterias.

¹ Antes *Bordetella bronquiseptica*.

Las lesiones histopatológicas encontradas se pudieron clasificar de la siguiente manera: Infiltración por neutrófilos (INFNE), infiltración por linfocitos (INFLIN), consolidación (CONS), enfisema (ENFI), hemorragias (HEMO) y descamación bronquial (DESEPI).

La frecuencia de estas lesiones en los pulmones con lesiones macroscópicas se encuentra en el Cuadro 2.

CUADRO 2

Incidencia de lesiones histopatológicas en pulmones con lesiones macroscópicas

LESIÓN	%
Infiltración por neutrófilos — INFNE	51.4
Infiltración por linfocitos — INFLIN	70.7
Exudado purulento — EXPU	47.1
Exudado seroso — EXSE	20.0
Consolidación — CONS	50.0
Enfisema — ENFI	.8
Hemorragias — HEMO	10.0
Descamación epitelial — DESEPI	70.0

* Los porcentajes no suman 100, porque varios pulmones presentaron dos o más lesiones.

En los Cuadros 3, 4, 5 y 6 están relacionadas entre sí las lesiones y bacterias que fueron estadísticamente significativas, o que sin serlo, se presentaron en porcentajes altos.

CUADRO 3

Interrelación de *Pasteurella multocida* con otros agentes aislados de pulmones neumónicos de cerdo

	%	p
1) EN TODOS LOS PULMONES <i>Pasteurella</i> con:		
" <i>C. murium</i> "	9	0.2
<i>Corynebacterium spp.</i>	10	0.2
Cólera	5	0.5
2) EN LESIÓN A: ¹		
" <i>C. murium</i> "	16	0.1
<i>S. pyogenes</i>	16	0.1
Cólera	11	0.6
3) EN LESIÓN B: ²		
<i>Corynebacterium spp.</i>	24	0.1
4) EN LESIÓN C: ³		
" <i>C. murium</i> "	15	0.5
<i>Corynebacterium spp.</i>	32	0.1

¹ Lesión A. Consiste en 0 a 5 puntos de severidad.

² Lesión B. Consiste en 5 a 10 puntos de severidad.

³ Lesión C. Consiste en 10 o más puntos.

CUADRO 4

Interrelación de "*Corynebacterium murium*" con otros agentes aislados de pulmones neumónicos de cerdo

	%	P
1) En TODOS LOS PULMONES " <i>C. murium</i> " con:		
<i>P. multocida P. haemolytica</i>	9	0.2
<i>Staphylococcus spp.</i>	10	0.2
<i>K. aerogenes</i>	15	0.02
<i>Neisseria spp.</i>	12	0.12
2) EN LESIÓN A:		
<i>P. multocida</i>	16	0.01
<i>P. haemolytica.</i>	29	0.01
3) EN LESIÓN B:		
<i>Staphylococcus spp.</i>	37	0.01
<i>Neisseria ssp.</i>	47	0.002
4) EN LESIÓN C:		
<i>P. multocida</i>	15	0.5

CUADRO 5

Relación entre lesiones macroscópicas e histopatológicas y agentes infecciosos aislados de pulmones neumónicos de cerdo

BACTERIA	LESIÓN MICROSCÓPICA		LESIÓN MACROSCÓPICA			
	EXPU. ¹	INFNE. ²	ENFI. ³	A ⁴	B ⁵	C ⁶
<i>P. multocida</i>	.03	.001	—	—	—	.02
<i>C. murium</i>	—	—	—	—	—	11%
<i>Staphylococcus</i>	—	—	.01	—	—	—
<i>E. coli</i>	—	—	.01	—	—	—

- 1 EXPU. Exudado purulento.
- 2 INFNE. Infiltración por neutrófilos.
- 3 ENFI. Enfisema.
- 4 Lesión A. Consiste en 0 a 5 puntos.
- 5 Lesión B. Consiste en 5 a 10 puntos.
- 6 Lesión C. Consiste en 10 o más puntos.

CUADRO 6

Relaciones entre lesiones macroscópicas y microscópicas de pulmones neumónicos de cerdo

INFNE CON EXPU	P = 0 0001
INFNE CON LESB	10%
INFNE CON LESC	10%
INFLIN CON EXSE	0.004
INFLIN CON DESEPI	13%

Se puede ver que *P. multocida* se relacionó de manera consistente pero no estadísticamente significativa con *Corynebacterium* spp. Además sólo esta bacteria estuvo estadísticamente relacionada con infiltración por neutrófilos y exudado purulento y con la lesión C.

Por otro lado, "*Corynebacterium murium*" se relacionó (no significativamente) con *Neisseria* spp. y con la lesión C. *Staphylococcus* spp. y *E. coli* se relacionaron significativamente con la presencia de enfisema.

Las diversas lesiones también pudieron ser relacionadas entre sí: La infiltración por neutrófilos estuvo altamente relacionada con la presencia de exudado purulento, y la infiltración por linfocitos con exudado seroso.

Discusión

La etiología de la Neumonía Enzoótica de los cerdos es muy compleja, y la importancia de ciertas bacterias como invasores secundarios varía en los diferentes países donde se ha estudiado. Así, en Inglaterra *Haemophilus parasuis* (*H. suis*) parece ser el invasor secundario más importante (Little, 1973), mientras que en los EU lo es *Pasteurella multocida* (Carter, 1970).

La dificultad para comprender el papel exacto que desempeñan la multitud de bacterias que se han aislado de pulmones neumónicos se debe a varios factores. Por un lado, la enfermedad no se puede reproducir experimentalmente con facilidad, debido sobre todo a que probablemente es el resultado de la interacción de varios agentes etiológicos, que actúan en secuencias fijas (Pijoan, 1975). Por otro lado, la mayoría de los estudios publicados no relacionan los microorganismos presentes con las varias lesiones. Bajo estas condiciones, es muy difícil saber si una bacteria aislada es realmente patógena y responsable de producir lesiones, o si es un saprofito cuya presencia en el pulmón es incidental a la lesión producida por otros microorganismos.

En este estudio se intentó resolver estas dificultades relacionando mediante cálculo

estadístico la presencia de bacterias con las lesiones macro y microscópicas. De esta manera se encontró que *Pasteurella multocida*, el agente más común (27.1%), también resultó el más patógeno, pues fue la única bacteria que se relacionó estadísticamente con infiltración por neutrófilos y presencia de exudado purulento, así como con las lesiones macroscópicas de mayor severidad (lesión C).

Con la excepción de *Staphylococcus* spp. y *E. coli*, ninguna otra bacteria tuvo relación estadística con la presencia de alguna lesión determinada, y se puede concluir que *Pasteurella multocida* es el agente invasor secundario más importante de esta condición en México. El papel de los estafilococos y de *E. coli* es más difícil de valorar, pues al encontrarse éstos pocas veces su relación con el enfisema pudiera ser coincidental.

La identificación de *Corynebacterium murium* realizada de acuerdo a las tablas de Cowan y Steel (1974), es algo dudosa. En efecto, *C. murium* es un agente raro del que sólo se ha informado en roedores (Wilson y Miles, 1964). Su hallazgo en cerdos es sorprendente y subraya la deficiente clasificación hecha de las corinebacterias de los animales.

Fue inesperado el no haber aislado micoplasmas o hemófilos de estos pulmones, ya que los hemófilos son muy importantes en otros países y los micoplasmas representan el enlace necesario entre la infección primaria por virus y el proceso neumónico bacteriano (Pijoan, 1975). Estos últimos son muy difíciles de cultivar, y posiblemente no fue-

ron aislados debido a pequeñas diferencias en la composición del medio de cultivo, o a factores tóxicos del filtro de asbesto que se utilizó para esterilizar el medio.

Algunos cortes histopatológicos con infiltración linfocitaria peribronquial (que es la lesión característica de la micoplasmosis pulmonar en cerdos) I demostraban la presencia de pequeñas formas pleomórficas cuando se utilizaba la tinción de Giemsa. Estas estructuras tenían la forma y el tamaño de micoplasmas, tal como se observan en cultivos de tejidos (Pijoan, 1973). De estas observaciones es posible concluir que los micoplasmas de los cerdos probablemente se encuentran en nuestro país.

Como conclusión de este trabajo emana la necesidad de continuar investigando la interacción de *Pasteurella multocida* con otros agentes, así como pensar en la posibilidad de elaborar bacterinas específicas para cerdos contra este agente. Para esto último, será necesario primero determinar a qué serotipo pertenecen las cepas aisladas.

Summary

Bacteria were isolated and identified from 140 pneumonic swine lungs. Their presentation was correlated with other bacteria and with macro and microscopic lesions, by means of statistical analysis. The most common bacteria was *Pasteurella multocida* (27.1%) which was also statistically related to the lesions of greater severity.

Literatura citada

- BARRY, A.J. and J.H. GOODNIGHT, 1972, Statistical Analysis System, *North Carolina State University*.
- CARTER, G.R., 1970, Pasteurellosis, En: *Diseases of Swine*, editor H.W. Dunne, *Iowa State University Press*, p. 563.
- COWAN, S.T. and K.J. STEEL, 1974, Identification of Medical Bacteria, 2nd edition, ed. *Cambridge University Press*.
- HUHN, R.G., 1970, Enzootic Pneumonia of Pigs: A review of the Literature, *Vet. Bull.*, 40:279.
- LITTLE, T.W.A., 1973, The role of Haemophilus in Porcine Respiratory Disease, Tesis de Ph. D. *London University*, England.
- PIJOAN, C., 1973, Studies on Mycoplasma in relation to Porcine Respiratory Disease, Tesis de Ph. D. *Surrey University*, England.
- PIJOAN, C., 1975, Neumonía Enzootica de los cerdos, En: *Avances de la Medicina Veterinaria y Zootecnia*, editor: R. Moreno Chan, en prensa.
- PIJOAN, C. and P.H. ROBERTS, 1971, Identification of *Mycoplasma hyorhinis*, *Br. Vet. J.*, 127:582.
- PIJOAN, C. and D.H. ROBERTS, 1973, Isolation of Mycoplasmas from porcine lungs, *Med. Lab. Tech.*, 30:123.
- WILSON, G.S. and A.A. MILES, 1964, Topley and Wilson's Principles of Bacteriology and Immunity, ed. *Edward Arnold*, (London) 5th edition, p. 583.
- SWITZER, W.P., 1970, Mycoplasmosis and Mycoplasmal Pneumonia, En: *Diseases of Swine*, editor H.W. Dunne, *Iowa State University Press*, p. 672.