

# Aislamiento e identificación de *Mycoplasma hyopneumoniae* a partir de lesiones neumónicas de cerdos de abasto.

**Resumen:** Hemos investigado la presencia de *M. hyopneumoniae* en lesiones neumónicas de cerdos sacrificados en matadero con, aproximadamente, 6 meses de edad y 90 kg de peso. Para ello, se analizaron un total de 30 pulmones, procesando muestras de cinco localizaciones diferentes: lóbulo craneal derecho, lóbulo medio derecho, lóbulo craneal izquierdo (porción caudal), lóbulo caudal izquierdo, así como de ganglios mediastínicos. Los 70 aislamientos obtenidos han sido sometidos al estudio previo de sus características culturales, catabolismo de la glucosa e hidrólisis de la arginina, finalizando con su identificación serológica por la técnica de inmunoperoxidasa indirecta sobre papel de nitrocelulosa.

Se ha detectado la presencia de *M. hyopneumoniae* en 16 lóbulos pulmonares y en dos ganglios mediastínicos, con lesiones microscópicas típicas de neumonía enzoótica porcina en doce de estos pulmones. Las lesiones histopatológicas características de esta enfermedad fueron analizadas siguiendo los criterios de gravedad establecidos por Livingston y cols. (1972).

Paralelamente, caracterizamos un total de 30 cepas de otras bacterias acompañantes aisladas a partir de las localizaciones mencionadas anteriormente, identificándose 13 aislamientos de *P. multocida*, 5 de *E. coli*, 4 de *Corynebacterium spp.*, 3 de *Staphylococcus spp.*, 2 de *Pseudomonas spp.*, 2 de *Streptococcus spp.*, y 1 de *B. bronchiseptica*.

**Palabras clave:** Neumonía. *Mycoplasma hyopneumoniae*. *Pasteurella multocida*. Inmunoperoxidasa indirecta. Cerdos de abasto.

Domenech, J.\*, Poveda, J.B.\*, Fernández, A.\*\*\*, Valera, N.\*, Portero, J.M.\*, Villalba, E.J.\* y Martín de las Mulas, J.\*\*.  
\*Departamento de Sanidad Animal.  
\*\*Departamento de Anatomía y Anatomía Patológica Comparadas. Facultad de Veterinaria de Córdoba. Avda. de Medina Azahara, s/nº. 14071 Córdoba.

## INTRODUCCIÓN.

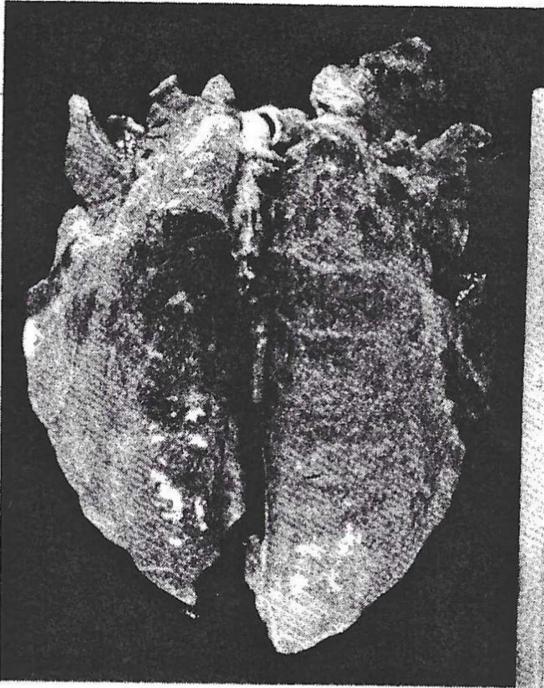
La neumonía micoplásmica o neumonía enzoótica porcina fue descubierta hacia 1930 en Alemania, aunque su agente causal no pudo ser cultivado y empleado en la reproduc-

ción experimental de dicha enfermedad hasta 1965 (9,12).

El efecto de la enfermedad inducida por *M. hyopneumoniae* sobre la funcionalidad del cerdo, se ha evaluado comparando el promedio diario de

conversión en animales con y sin lesiones neumónicas.

De esta forma, ha podido contrastarse que el costo de la neumonía enzoótica en la producción porcina es enorme debido sobre todo a su carácter



**Fig. 1.** Pulmón de cerdo sacrificado mostrando evidentes lesiones neumónicas en los lóbulos craneales e intermedios.

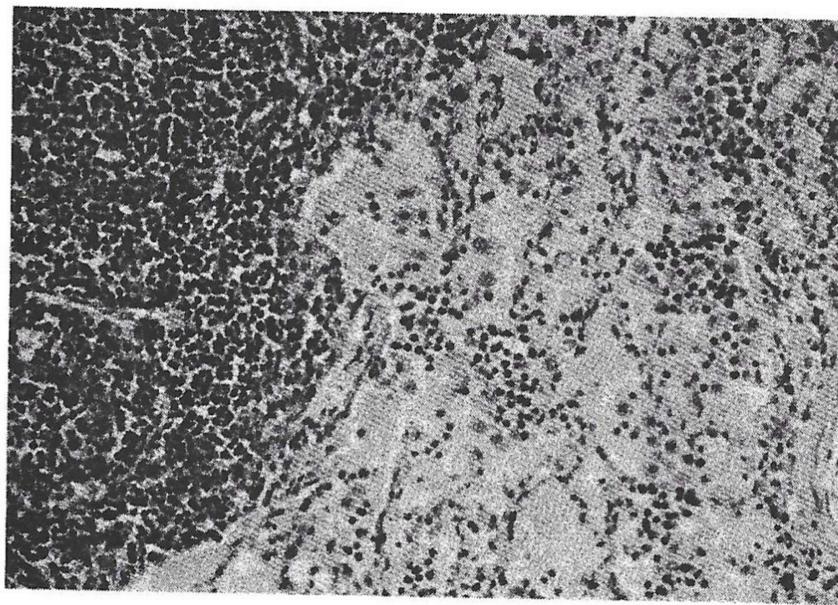
crónico, ocasionando pérdidas por deficiencias de ganancias de peso y retraso en el crecimiento.

Por otra parte, se ha demostrado que a la neumonía ligera y efecto inmunosupresor que ocasiona *M. hyopneumoniae*, se suma la acción de *P. multocida*, complicando y determinando la aparición de neumonías graves.

En nuestro país, y a pesar del fuerte impacto económico que originan estas afecciones, no se habían realizado estudios microbiológicos que posibilitasen el aislamiento y tipificación de los micoplasmas involucrados en los trastornos respiratorios porcinos. Estos precedentes nos han motivado a la realización del presente estudio, en el cual nos hemos planteado el aislamiento e identificación de micoplasmas y bacterias acompañantes en los lóbulos de pulmones neumónicos de cerdos de abasto, conocer la frecuencia de *M. hyopneumoniae* y *P. multocida* en estas neumonías, y estudiar microscópicamente la intensidad y clasificación de las lesiones neumónicas.

## MATERIAL Y MÉTODOS.

En el presente estudio se han investigado 30 pulmones neumónicos de cerdos sacrificados en el matadero industrial ICCOSA, ubicado en Córdoba en el año 1.990, intentando el aislamiento de bacterias de las siguientes



**Fig. 2.** Hiperplasia del tejido linfoide (BALT), abundantes macrófagos alveolares y linfocitos. Lesión clasificada como (+++).

localizaciones pulmonares: lóbulo craneal derecho, lóbulo medio derecho, lóbulo craneal izquierdo (porción caudal), lóbulo caudal derecho, así como ganglios mediastínicos. Para ellos, se procedió a cauterizar la superficie pulmonar, incidiendo en ésta con un bisturí flameado y accediendo al parénquima con una torunda estéril para evitar así la posible contaminación con bacterias de la superficie del pulmón.

A continuación, las torundas se inocularon en medio líquido de Friis modificado (16), incubándolas a 37°C durante 24 horas en agitación continua. Después, los cultivos fueron filtrados por membrana Millipore de 0,45 micrómetros de diámetro, y éstos, reinoculados nuevamente en el citado medio, incubándose en las mismas condiciones hasta un tiempo máximo de una semana.

Una vez obtenido crecimiento en medio líquido, los cultivos se trasladaron a medio sólido de Friis modificado (16), incubándose de 2 a 10 días a 37°C en atmósfera húmeda con un 5-10% de CO<sub>2</sub>, hasta comprobar la presencia de colonias.

El aislamiento se realizó según las técnicas estándar descritas por el Subcomité de Taxonomía de la Clase Mollicutes (19), y la identificación mediante la prueba de inmunoperoxidasa indirecta sobre papel de nitrocelulosa (20).

Asimismo, como pruebas complementarias comprobamos el metabolismo de la glucosa en el medio SP-4 (21), y la hidrólisis de la arginina en

medio líquido de Friis con arginina al 0,2%.

Para la elaboración de los correspondientes antisueros empleamos una modificación del método descrito por Senterfit (1983), utilizando como antígenos las siguientes cepas de referencia: *M. hyopneumoniae* (J), *M. hyorhinis* (BTS-7), *M. flocculare* (MS42) y *M. hyosynoviae* (S16), las cuales nos fueron amablemente suministradas por la Prof. Dra. Helga Kirchhoff del Instituto de Microbiología y Enfermedades Infecciosas de la Escuela Superior de Veterinaria de Hannover (Alemania). Con esta finalidad, se inocularon diferentes lotes de conejos, administrando dosis de recuerdo a los 21 días, la primera, y cada 15 días las siguientes, hasta un total de 15, intercalando sangrías de prueba a los 90, 150 y 210 días desde la primera inoculación, para comprobar el poder inhibidor del crecimiento de estos sueros frente a las cepas de referencia utilizadas en la inmunización. Paralelamente, estos antisueros fueron titulados mediante la técnica de inmunoperoxidasa indirecta sobre papel de nitrocelulosa.

Los antisueros frente a *Acholeplasma laidlawii* (PG8) y *Acholeplasma granularum* (BTS-39), nos fueron facilitados por el Ldo. en Veterinaria D. Enrique Villalba Montoro de nuestro Departamento de Sanidad Animal.

Con estos antisueros, se procedió a la identificación serológica de los aislamientos. Para ello, en cada placa de

medio de Friis colocamos pequeñas tiras de papel de nitrocelulosa estériles, sobre las que resembramos los cultivos objeto de estudio. Seguidamente, las microcolonias desarrolladas sobre esta superficie se enfrentaron, en una primera fase, con cada uno de los antisueros elaborados en conejo y, en una segunda, con suero anti-conejo unido a peroxidasa (Chemicon). Finalmente, la reacción fue puesta de manifiesto usando como revelador una sustancia constituida por una mezcla de cloronaftol (12 mg), metanol (4 ml), tampón fosfato sódico (20 ml) y peróxido de hidrógeno al 35% (10 microlitros).

En los casos positivos aparecían sobre el soporte indicado a 450 aumentos, microcolonias teñidas de azul, y en los negativos comprobamos la presencia de colonias con el colorante de Diennes al 3%.

Por otra parte, se procedió al estudio histopatológico de las lesiones neumónicas, observándose la relación existente entre éstas con los microorganismos aislados. Con este fin, se obtuvieron muestras de diferentes áreas anatómicas de los 30 pulmones de cerdo, las cuales, fueron fijadas en alcohol de 96<sup>º</sup> durante una hora a 4<sup>º</sup>C y en formaldehído tamponado al 10% a temperatura ambiente. Las primeras fueron procesadas e incluidas en parafina según el método de Saint Marie (1962). Las muestras fijadas en formaldehído se incluyeron en parafina según el método rutinario. Los cortes histológicos se realizaron en un microtomo Reichert Jung, modelo 1130/biocut 20, a un grosor de 4-6 micras, y se teñieron con la técnica de la hematoxilina-eosina.

En cuanto al aislamiento de otras bacterias, se obtuvieron, mediante torundas, muestras del parénquima pulmonar, las cuales, se inocularon en agar sangre con un 5% de sangre de caballo defibrinada. Así, aquellas procedentes del lóbulo craneal derecho, lóbulo medio derecho y ganglio mediastínico, se incubaron a 37<sup>º</sup>C en aerobiosis y, las tomadas de los lóbulos craneal izquierdo (porción caudal) y caudal izquierdo, también a 37<sup>º</sup>C

pero en una atmósfera con un 5% de CO<sub>2</sub>. Además, se sembró en estas placas una estria de *Staphylococcus aureus*, para facilitar el crecimiento de las especies del género *Haemophilus*. El tiempo de incubación estuvo comprendido entre 24-48 horas. El siguiente paso consistió en clonar cada tipo de colonia, sembrarla en agar trip-tosa y congelarlas a -40<sup>º</sup>C para su posterior identificación.

Los aislamientos bacterianos fueron identificados atendiendo inicialmente al aspecto de las colonias, hemólisis en agar sangre de caballo (DIFCO), reducción de nitratos, producción de ureasa, lisina decarboxilasa, ornitina decarboxilasa y arginina dihidrolasa; pruebas de rojo metilo, Voges Proskauer y presencia de gelatinasa.

Asimismo, se investigó el metabolismo proteico determinando la producción de sulfídrico e indol, llevadas a cabo en medio de SIM (MERCK), donde también se estudió la motilidad.

Finalmente, en el estudio de fermentación de azúcares se confeccionó un medio sólido con rojo fenol como indicador (DIFCO) al que se le incorporó al 1% los siguientes sustratos: lactosa, sorbitol, manitol, arabinosa, maltosa, xilosa, glucosa, celobiosa, inulina, manosa, melobiosa, rafinosa, trealosa y sacarosa.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN.

*Mycoplasma hyopneumoniae* es uno de los Mollicutes más difíciles de cultivar en medios nutricios exentos de células. Su primer aislamiento solamente se consigue en medios de cultivo líquidos, siendo muy importante un alto grado de pureza en sus constituyentes. Este aislamiento se complica por la presencia constante de otros micoplasmas porcinos, especialmente *M. hyorhinis*, cuyo rápido crecimiento acidifica el medio e impide el desarrollo de *M. hyopneumoniae*. Para eludir este problema hemos incrementado la concentración de suero de cerdo (10), recurriendo al empleo de la modificación introducida por Ross y Whittlestone en 1983 a la fórmula original de Friis (1975), lo cual

supone un incremento de un 8.1% de suero de cerdo, permitiendo así una mejor adaptación de este microorganismo al cultivo artificial.

Por otra parte, resulta esencial la filtración de los cultivos originales 24-48 horas más tarde, por una membrana de 0.45 micrómetros de diámetro para eliminar la presencia de otras bacterias, así como la incubación en agitación continua para aumentar la velocidad de crecimiento de *M. hyopneumoniae*.

En el medio líquido de Friis, el crecimiento de *M. hyopneumoniae* es muy parecido al de *M. flocculare*, ambos tardan al menos 4-5 días en hacer virar ligeramente el rojo fenol del medio hacia naranja, y algunos aislamientos manifiestan una pequeña turbidez sin cambio en el color del indicador. Con respecto al desarrollo colonial en los medios sólidos, ambas especies se caracterizan por formar colonias muy pequeñas, como máximo de 0,5 mm de diámetro después de 7-10 días de incubación. Estas colonias son irregulares, sin centro, careciendo por ello de la morfología típica de "huevo frito" que presentan otras especies, e indistinguibles en la observación microscópica.

La obtención de un antisuero frente a *M. hyopneumoniae* en conejos, representa una de las fases más laboriosas de este estudio, ya que después de 16 inoculaciones en un tiempo aproximado de 9 meses, no fue posible conseguir un efecto inhibitor del crecimiento *in vitro*, del suero de los conejos sobre la cepa de referencia de *M. hyopneumoniae*, por lo cual, empleamos la técnica de inmunoperoxidasa indirecta sobre papel de nitrocelulosa (20). Así evaluamos los antisueros obtenidos en conejos, comprobando la alta sensibilidad de esta técnica, aunque detectamos una reacción inmunológica cruzada entre los antisueros de *M. hyopneumoniae* y *M. hyorhinis* por poseer, ambas especies, antígenos superficiales de membrana comunes (7).

Por esta circunstancia, la diferenciación entre los aislamientos que corres-

**TABLA I**

Asociación de Micoplasmas y otras bacterias.

Muestra	Localización	Especies de micoplasmas	Otras bacterias
5	Lóbulo medio derecho	<i>M. hyorhinis</i>	<i>Corynebacterium spp.</i>
7	Ganglio mediastínico	<i>M. hyopneumoniae</i>	<i>Corynebacterium spp.</i>
20	Ganglio mediastínico	<i>M. hyopneumoniae</i>	<i>Corynebacterium spp.</i>
25	Lóbulo craneal izquierdo (Porción caudal)	<i>M. hyopneumoniae</i>	<i>P. multocida</i>
26	Lóbulo craneal izquierdo (Porción caudal)	<i>M. hyopneumoniae</i> y <i>M. flocculare</i>	<i>P. multocida</i>
29	Lóbulo craneal derecho	<i>M. hyopneumoniae</i> y <i>M. hyorhinis</i>	<i>P. multocida</i>
31	Lóbulo craneal derecho	<i>M. hyopneumoniae</i>	<i>E. coli</i>
35	Lóbulo craneal izquierdo (Porción caudal)	No identificado	<i>E. coli</i>
36	Ganglio mediastínico	<i>M. hyopneumoniae</i> , <i>M. hyorhinis</i> y <i>M. hyosynoviae</i>	<i>P. multocida</i>
37	Lóbulo craneal derecho	<i>M. hyopneumoniae</i>	<i>P. multocida</i>
51	Lóbulo craneal derecho	<i>M. hyosynoviae</i>	<i>P. multocida</i>
54	Lóbulo craneal izquierdo (Porción caudal)	<i>M. flocculare</i>	<i>E. coli</i>
59	Lóbulo craneal izquierdo (Porción caudal)	<i>M. hyopneumoniae</i> , <i>M. hyorhinis</i> y <i>M. flocculare</i>	<i>P. multocida</i>

**TABLA II**

Relación entre los aislamientos de *M. hyopneumoniae* y otras bacterias con las lesiones histopatológicas.

Muestras	Aislamientos	Tipos de lesiones
25-2	<i>M. hyopneumoniae</i> y <i>P. multocida</i>	Hiperplasia linfoide nodular del BALT, bronquitis catarras, bronquiolitis y alveolitis (+++).
27-2	<i>M. hyopneumoniae</i>	
46-2	<i>M. hyopneumoniae</i>	Hiperpl. linf. nodular del BALT (+++)
5-2	<i>M. hyopneumoniae</i> y <i>Corynebacterium spp.</i>	Bronquitis catarral, bronquiolitis, alveolitis y bronconeumonía purulenta (++)
37-1	<i>M. hyopneumoniae</i> y <i>P. multocida</i>	
15-2	<i>M. hyopneumoniae</i>	Bronquitis catarral, bronquiolitis y alveolitis (++)
58-2	<i>M. hyopneumoniae</i>	
1-2	<i>M. hyopneumoniae</i>	
2-3	<i>M. hyopneumoniae</i>	Infiltrado difuso de linfocitos y cel. plasmáticas (+)
29-1	<i>M. hyopneumoniae</i> y <i>P. multocida</i>	
62-1	<i>M. hyopneumoniae</i>	
70-3	<i>M. hyopneumoniae</i>	
7-4	<i>M. hyopneumoniae</i> y <i>Corynebacterium spp.</i>	Linfoadenitis inespecífica.
20-4	<i>M. hyopneumoniae</i> y <i>Corynebacterium spp.</i>	

1:Lóbulo craneal der. 2:Lóbulo medio der. 2:Lóbulo craneal iz. 3:Lóbulo caudal der. 4:ganglio medis.

pondían a *M. hyopneumoniae* y *M. hyorhinis* la llevamos a cabo previo estudio de sus características culturales y bioquímicas. De esta forma, aquellos aislamientos que presentaron un crecimiento rápido (24-48 horas), tanto en medio líquido como en sólido, con formación de colonias típicas, fermentación de la glucosa en medio SP-4 y positividad en la identificación serológica frente a los antiseros de *M. hyopneumoniae* y *M. hyorhinis*, se agruparon como *M. hyorhinis* ya que *M. hyopneumoniae* se caracteriza por poseer un crecimiento lento (más de 96 horas), con formación en los medios sólidos de colonias granulares sin centro, y cuyo tamaño máximo de 0.5 mm de diámetro sólo se consigue después de 10 días de incubación (4).

Con respecto a nuestros resultados, hemos conseguido un total de 70 aislamientos de micoplasmas a partir de ciento cincuenta localizaciones pulmonares (46.6%), de los cuales, más de la mitad corresponden a *M. hyopneumoniae* (53.3%), resultado muy parecido al obtenido por Bolske y cols. en 1982 (54%), y ligeramente superior a los datos aportados por Meyling en 1971 (40%), Friis en 1971 (38%), Gois y cols. en 1975 (49%) y MacPherson y Hodges en 1985 (30%).

Por otra parte, 12 de estos pulmones presentaban lesiones microscópicas típicas de neumonía enzoótica porcina, desde las clasificadas como (++) por Livingston y cols. en 1972, en base a la presencia de bronquitis catarral, bronquiolitis y alveolitis, pasando por (+++), en la que se observa una hiperplasia nodular del tejido linfoide asociado a bronquios junto a una alveolitis. No obstante, junto a estas lesiones típicas de neumonía enzoótica porcina, hemos encontrado en algunos casos una bronconeumonía purulenta como es el caso de la muestra 5-2 (Tabla II).

*M. hyopneumoniae* puede persistir en ganglios linfáticos en una primera fase de la infección, cuando todavía no se ha instaurado la inmunidad humoral, debido a que los micoplasmas patógenos no pueden ser fagocitados si previamente no hay una opsonización

pulmones neumónicos de cerdos en Dinamarca, Reino Unido, Suiza y Estados Unidos (1), y aunque su papel patógeno no es bien conocido, la infección experimental de lechones por aerosol, da lugar al desarrollo de pequeñas lesiones neumónicas, con acumulos peribronquiales y perivasculares de células mononucleares (4). Recientemente, se ha detectado una reacción serológica cruzada entre *M. hypopneumoniae*, y *M. flocculare*, al emplear las técnicas de ELISA e inmunoelectroforesis (2). Nosotros no hemos observado la reacción entre los antisueros de *M. Hypopneumoniae* y *M. flocculare* con la técnica de inmunoperoxidasa indirecta sobre papel de nitrocelulosa, por lo que cabe la posibilidad de que los antígenos que puedan compartir ambas especies, se sitúen a su nivel citoplasmático, ya que los antisueros que elaboramos en conejos, se realizaron hiperinmunizando a éstos con suspensiones íntegras de micoplasmas, con la finalidad de que la respuesta serológica fuese principalmente frente a los respectivos epítomos de las membranas citoplasmáticas, para de esta forma, identificar *in vitro* nuestros aislamientos.

otros microorganismos como *M. hyorhinis*, *M. hyosynoviae*, *M. flocculare*, *A. laidlawii*, *A. granularum*, y 5 aislamientos de micoplasmas no identificables han sido encontrados en los 30 pulmones estudiados.

*M. hyosynoviae* se aisló de cinco muestras pulmonares. Aunque este microorganismo ha sido asociado a procesos artríticos (15), también se encuentra en las secreciones nasales y faríngeas, persistiendo en cerdos y faríngeas, persistiendo en cerdos portadores durante mucho tiempo. ROSS y cols., en 1977, lo aislaron de articulaciones de cerdos afectados de artritis. Estos autores, demostraron que los cerdos de 4-8 semanas podían ser infectados por inoculación nasal o faríngea, y el organismo estaba presente en sangre 2-4 días después de la exposición nasal. Esta septicemia persiste 8-10 días, y durante este período puede ocurrir la infección de las articulaciones. Parece probable, en base a los resultados que nosotros hemos obtenido, que durante la fase septicémica, se localice también en el parénquima pulmonar, persistiendo aquí, y actuando estos cerdos adultos como portadores de *M. hyosynoviae*.

De *M. flocculare* se obtuvieron tres aislamientos. Este micoplasma ha sido detectado en la cavidad nasal y

con los anticuerpos específicos (3). Por otra parte, *M. hypopneumoniae* induce una enfermedad crónica, que puede ser la consecuencia de un retraso en la aparición de estas inmunoglobinas. Sin embargo, en una segunda fase de la infección y ya en presencia de anticuerpos específicos, en los ganglios mediastínicos podrían ser retenidos sistemáticamente todos los micoplasmas para ser fagocitados. En este sentido, consideramos que esta localización debe tenerse en cuenta como lugar alternativo para el aislamiento de estos microorganismos, debido a que en nuestro estudio obtuvimos un 43.3% de cultivos positivos de micoplasmas a partir de estos ganglios.

Las lesiones más significativas de neumonía enzótica porcina, fueron detectadas en las muestras 25-2', 27-2 y 46-2 (Tabla 2). De todas estas localizaciones se aisló *M. hypopneumoniae*, aunque de la muestra 25-2', también se obtuvo un cultivo de *P. multocida*. Esta especie bacteriana coincidió en 7 lóbulos pulmonares con *M. hypopneumoniae*, y se aisló de un total de 9 pulmones, siendo la bacteria acompañante más frecuentemente encontrada en nuestro estudio (30%).

Además de *M. hypopneumoniae*,

Summary: We have investigated the presence of *M. hypopneumoniae* in pneumonic lesions from pigs of about six months old and ninety kg. in weight, slaughtered in an abattoir. For this reason, we analysed thirty lungs, working with samples from five different locations: right cranial lung lobe, right middle lung lobe, and also from mediastinal lymph nodes. We have got seventy isolations which have been subjected to a previous study of their cultural characteristics, glucose catabolism and arginine hydrolysis, ending with their serologic identification by the indirect immunoperoxidase technique on nitrocellulose paper.

It has been detected the presence of *M. hypopneumoniae* in sixteen lung lobes and in two mediastinal lymph nodes, finding microscopic lesions which are typical from the swine enzootic pneumonia in twelve of these lungs. The typical histopathological lesions from this illness were analysed following the gravity criteria set up by Livingston et al. in 1972. At the same time, we have typified a total number of thirty groups of other escort bacteria, isolated from the locations we mentioned before, and from which we have identified thirteen *P. multocida*, five *E. coli*, four *Corynebacterium spp.*, three *Staphylococcus spp.*, two *Pseudomonas spp.*, two *Streptococcus spp.* and one *B. bronchiseptica* isolations.

Key Words: Pneumonia. *Mycoplasma hypopneumoniae*. *Pasteurella multocida*. Indirect immunoperoxidase. Supply pigs.

## BIBLIOGRAFÍA.

1. Armstrong, G.H. and Friis, N.F. Isolation of *Mycoplasma flocculare* from swine in the United states. *Am. J. Vet. Res.* 42, 6, pp 1030-1036. 1981.
2. Bolske, G., Strandberg, M.L., Bergstrom, k. and Johansson, K.E. Species-specific antigens of *Mycoplasma hyopneumoniae* and cross-reactions with other porcine mycoplasmas. *Current microbiology* 15, pp233-239. 1987.
3. Cassel, g.H., Clyde, W.A. Jr. and Davis, J.K. Mycoplasmal respiratory infections. In the Mycoplasmas. Vol. IV. Razin, S. and Barile, M.F., eds. London and New York. Academic Press. pp 65-105. 1985.
4. Freundt, E.A. and Razin, S. Genus I. Mycoplasma. In Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. Krieg N.R. and Holt, J.G. (eds) 9 th ed. Williams and Wilkins Co. Baltimore, pp 742-770. 1983.
5. Friis, N.F. *Mycoplasma hyorhinis* as a causative agent in pneumoniae of pig. *Acta Vet. Scand.* 12, pp116-119. 1971.
6. Friis, N.F. Some recomendations concerning primary isolation of *Mycoplasma suis pneumoniae* and *Mycoplasma flocculare*. *Nord Veterinaermed.* 27, pp337-339. 1975.
7. Friis, N.F., Jensen, P. T. Serological comparison of type strains of porcine, bovine and ovine mycoplasmas with atypical colony morphology *Acta Vet. Scand.* 12, pp137-141. 1984.
8. Gois, M., Sisak, F., and Sovadina, M. Incidence and evaluation of the microbial flora in the lungs of pigs with enzootic pneumonia. *Zentralbl. Veterinaer-med.* B. 22, pp205-219. 1975.
9. Goodwin, R.F., Pomeroy, A.P. and Whittlestone, P. Production of enzootic pneumonia in pig with a mycoplasma. *Vet. Rec.* 77, pp1247-1249. 1965.
10. Goodwin, R.f. citado por Whittlestone, P. 1979. Porcine Mycoplasmas. In the Mycoplasmas. Vol. II, Tully, J.G. and R.F. Whitcomb, New York, Academic Press, p 138. 1976.
11. Livingston, G.W., Stair, E.L., Underdahl, N.R., Mebus, C.A. Pathogenesis of Micoplasmal pneumonia in swine. *Am. J. Vet. Res.* 33, 2249-2258. 1972.
12. Mare, C.I. and Switzer, W.P. New Species: *Mycoplasma hyopneumoniae*. A causative agent of virus pig pneumoniae. *Vet. Med. Small Anim. Clin.* 60, pp841-8446. 1965.
13. Macpherson, M.R. and Hodges, R.T. The occurrence of mycoplasmas in the lungs of pig in New Zealand. *New Zeal. Vet. J.* 33, pp194-197. 1985.
14. Meyling, A. *Mycoplasma suis pneumoniae* and *Mycoplasma hyorhinis* demonstrated in pneumonic pig lungs by the fluorescent antibody technique *Acta Vet. Scand.* 12, pp137-141. 1971.
15. Ross, R.F. and Karmon, J.A. Heterogeneity among strains of *Mycoplasma granularum* and identification of *Mycoplasma synoviae*, sp.n. *J. Bacteriol* 103, pp707-713. 1970.
16. Ross, R.F. and Whittlestone, P. Recovery of identification of, and serological response to porcine mycoplasmas. In methods in Mycoplasmology. Vol. II. Tully, J.G. and Razin, S. New York, Academic Press, pp115-128. 1983.
17. Sainte Marie, G. A paraffin embedding technique for studies employing immunofluorescence. *J. Histochem Cytochem.* 10, pp250-256. 1962.
18. Senterfit, L.B. Preparation of antigens and antisera. In Methods in Mycoplasmology. Vol I. Razin S. and J.G. Tully eds. Academic Press. New York. pp401-404. 1983.
19. Subcommitte on the taxonomy of mollicutes. Minutes of the intering meeting 25, and 28. August 1986. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 38, pp226-230. 1988.
20. Ter Laak, E.A. and Noordergraaf, J.H. An improved method for, the identification of *Mycoplasma dispar*. *Vet. Microbiol.* 14, pp25-31. 1987.
21. Whitcomb, R.F. Culture media for spiroplasmas. In Methods in Mycoplasmology. Vol I. Razin, S. and Tully, J.G., eds. New York. Academic Press, pp159-162. 1983.

# NOTICIAS - NOTICIAS - NOTICIAS - NOTICIAS

## PRIMER AÑO DE ÉXITO EN EUROPA PARA CLINACOX

Sólo doce meses después de su lanzamiento europeo, Clinacox —el nuevo anticoccidiósico de Janssen Pharmaceutica— distribuido en España por Esteve Veterinaria, ha alcanzado una participación del 16 % dentro del mercado de anticoccidiósicos para pollos de carne.

Clinacox ha obtenido la aceptación del mercado europeo muy rápidamente, con la mayoría de productores de pollos utilizando Clinacox en sus programas shuttle.

En la actualidad, más de 50 países en todo el mundo utilizan Clinacox y en algunos países de la Europa del Este, incluyendo Checoslovaquia, Bulgaria, Polonia y Rumanía, se prevé el lanzamiento del producto en los próximos meses.

La introducción de Clinacox ha brindado a los productores de pollos de carne la oportunidad de romper con los programas anticoccidiósicos tradicionales y ha conducido, en muchos países, a una importante disminución de la presión ejercida por la coccidiosis.

También en el Reino Unido se ha venido utilizando Clinacox en programas

shuttle, principalmente, habiéndose informado de mejoras significativas en los índices de conversión.

Este éxito en el control de la coccidiosis puede, naturalmente, mantenerse en el futuro mediante la utilización controlada y planificada de Clinacox.

A la larga, los productores avícolas deben intentar obtener un mayor equilibrio entre el uso de anticoccidiósicos ionóforos y de síntesis.

Laboratorios Dr. Esteve, S.A.  
Esteve Veterinaria  
Av. Mare de Déu de Montserrat, 221  
08026 Barcelona.