

Estudio de factores de riesgo asociados a la infección por *Mycoplasma suis*

PEREYRA, N.B.^{1,2*}; PEREZ, A.M.^{3,4,;} MESSICK, J.B.^{5;} CANE, F.D.^{2;} GUGLIELMONE, A.A.⁶

Resumen

Este estudio se propuso estimar la distribución de la infección por *Mycoplasma suis* en poblaciones de cerdos de Argentina e identificar factores de riesgo asociados. Se recolectaron 284 muestras de sangre de cerdos de diferentes categorías productivas en frigoríficos y granjas de las provincias de Santa Fe, Córdoba y Buenos Aires. Amplificando el gen del ARNr 16S de *M. suis* a través de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), se calculó un porcentaje de infectados del 64%. Se estimó además que no existía asociación estadísticamente significativa ($p > 0,1$) entre un resultado positivo a la PCR y el sexo del animal muestreado, los antecedentes de anemia en la granja y las condiciones de alojamiento. Contrariamente se encontró asociación significativa ($p < 0,1$) con el origen geográfico y la categoría productiva. Se estimó que los cerdos de Buenos Aires y Córdoba tenían más probabilidades de ser PCR positivos que los de Santa Fe, mientras que los lechones y los cerdos de recría tenían menos riesgo de infectarse que los animales de más edad. Se concluye que el *M. suis* está ampliamente distribuido en las poblaciones porcinas estudiadas del país.

Palabras clave: (*Mycoplasma suis*), (PCR), (factores de riesgo), (cerdos)

¹Cátedra de Microbiología, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de Rosario, Argentina

²Instituto de Porcinotecnia, Ministerio de la Producción de la Provincia de Santa Fe, Argentina

³Center for Animal Disease Modeling and Surveillance, University of California, USA

⁴CONICET - Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de Rosario, Argentina

⁵Department of Comparative Pathobiology, Purdue University, USA

⁶Estación Experimental Agropecuaria Rafaela, Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria, Argentina.

*npereyra@atvet.com.ar; Instituto de Porcinotecnia, Ruta Prov. 93 Km 99, (2643) Chañar Ladeado, Santa Fe

Recibido: 18/05/2010 - Aceptado: 05/01/2011

Summary

The objective of this study was to estimate the distribution of *Mycoplasma suis* infection in pig populations of Argentina and identify associated risk factors. Blood samples were collected from 284 pigs, including different productive categories of animals, in abattoirs and herds from Santa Fe, Córdoba and Buenos Aires provinces. Based on the polymerase chain reaction (PCR) amplification of the *M. suis* 16S rRNA gene, it was estimated a proportion of infected animals of 0.64. Non-statistically significant ($P>0.1$) associations were found between gender, anemia herd history, and breeding conditions with PCR results. On the other hand, significant associations ($P<0.1$) were found between sanitary status to the infection and geographic origin and productive categories. It was estimated that pigs from Buenos Aires and Córdoba provinces were at higher risk of being PCR-positive than pigs from Santa Fe, while piglets and post-weaning pigs were at lower risk of being PCR-positive than other categories. This study suggests that *M. suis* infection is widespread in the studied pig populations of Argentina.

Keywords: (*Mycoplasma suis*), (PCR), (risk factors), (pigs), (Argentina)

Introducción

Mycoplasma suis parasita obligadamente la superficie de los eritrocitos porcinos pudiendo causar anemia hemolítica desde suave a severa. *M. suis*, así como otras especies anteriormente incluidas en los géneros *Eperythrozoon* y *Haemobartonella* de la familia *Anaplasmataceae*, representa un nuevo grupo de micoplasmas hemotróficos o hemoplasmas^{13, 14, 15}.

Los hemoplasmas pueden persistir por años infectando animales en forma latente sin producir enfermedad. Es el bazo el que clarifica la circulación secuestrando los glóbulos rojos infectados, y si se somete a estos animales a esplenectomía, estrés u otros factores inmunosupresores, se provoca la aparición de numerosas bacterias en sangre e inclusive signos clínicos. Sin embargo, algunas especies de hemoplasmas entre las que se incluye *M. suis*, pueden causar enfermedad evidente aún en huéspedes inmunocompetentes^{9, 13, 14, 21}. Así, *M. suis* produce la eperitrozoonosis, hemoplasmosis (HP) o anemia infecciosa de los cerdos^{6, 9, 13, 14}, enfermedad que se detectó por primera vez en

la Argentina en 1985¹⁰ y que se caracteriza por cuatro síndromes:

1- Anemia crónica y fallas reproductivas en cerdas, caracterizadas por celos irregulares, muerte embrionaria, abortos y muerte perinatal; disminución en la producción de leche e inadecuada conducta maternal asociadas con el estrés del post-parto^{3, 6, 7, 22}.

2- Anemia, ictericia y debilidad en lechones recién nacidos con una susceptibilidad aumentada a enfermedades respiratorias y digestivas^{2, 6, 7, 22}.

3- Inadecuada conversión del alimento en las etapas de recría y terminación^{2, 6, 7, 22}.

4- Anemia, ictericia, debilidad, dificultad respiratoria y muerte en cerdos de recría y terminación^{1, 6, 7, 10, 17, 18, 20}.

Históricamente se han utilizado las tetraciclinas para aliviar los signos clínicos en forma efectiva²⁰, aunque hoy también se reconoce la eficacia de la tilosina¹⁷. De cualquier manera, se asume que tanto los cerdos tratados como aquellos que sobrevivieron a la infección sin tratamiento, se transforman en portadores, ya que no se ha comprobado que sean capaces de liberarse de la infección^{6, 13, 14}.

Debido a la imposibilidad de cultivo de *M. suis*, no se contó con métodos seguros de diagnóstico hasta el advenimiento de las técnicas moleculares^{9, 13, 14}. La reacción en cadena de la polimerasa (PCR) puede detectar microorganismos aún en muy bajo número en muestras clínicas como sangre. La amplificación del gen del ARNr 16S de *M. suis* usando PCR es un procedimiento específico y sensible para detectar la bacteria aún en portadores^{8, 12}.

En Argentina, no se conoce la distribución de la infección en los cerdos, los factores de riesgo asociados, ni todos los posibles problemas que esta infección acarrea para la porcicultura. Por lo tanto, el objetivo de este trabajo fue investigar en qué medida la infección por *M. suis* estaba presente en distintas poblaciones porcinas de Argentina así como estimar la asociación con distintos factores de riesgo, como un paso hacia una mejor comprensión del comportamiento de la HP en el país.

Materiales y métodos

Recolección de muestras de sangre de cerdos de campo

Se obtuvieron 284 muestras de sangre en tubos con anticoagulante (EDTA) de porcinos pertenecientes a 38 granjas: 22 ubicadas en las zonas central y sur de la provincia de Santa Fe (Departamentos Caseros, General López, Rosario, Iriondo y San Jerónimo), 11 en las áreas sur y sureste de la provincia de Córdoba (Departamentos Marcos Juárez, Unión y Río Cuarto) y 5 del área centro-norte de la provincia de Buenos Aires (Partidos de Roque Pérez, Bragado, General Viamonte y Marcos Paz). Ciento noventa y seis muestras de sangre fueron recolectadas durante la faena en frigoríficos, obteniéndose luego la información sobre el establecimiento del cual provenían; 88 muestras se recolectaron en granjas de producción que se seleccionaron de acuerdo al interés de los propietarios de participar en el estudio.

Se categorizaron las muestras de acuerdo a la ubicación geográfica de las granjas de origen, a la

categoría productiva de los animales (lechones, cerdos de recria, cerdos en desarrollo, cerdos en terminación y reproductores), al sexo, al tipo de manejo y a los antecedentes de anemia en el establecimiento del cual provenían (la información sobre estas 3 últimas variables no se pudo obtener para todas las muestras).

Todas las muestras fueron almacenadas en freezer de -20°C hasta su análisis.

Reacción en cadena de la polimerasa

Extracción y purificación del ADN

Se utilizó un kit comercial de extracción de ADN (Generation[®] Capture Column Kit, Genra Systems, Minneapolis, MI, EEUU) basado en un sistema de columnas simples más centrifugación. Se siguieron las especificaciones del fabricante para extraer y purificar el ADN a partir de 200 μl de sangre entera con EDTA.

Reacción en cadena de la polimerasa

Las reacciones de amplificación se llevaron a cabo en un ciclador térmico tipo Peltier (PTC-100[®] Peltier Thermal Cycler, MJ Research, Inc, Waltham, MA, EEUU). Se utilizaron primers para la amplificación del gen 16S del ARN ribosomal reportados previamente (12): el primer sentido (f2) fue 5' GCT TAA CAA GTG TTC GCG GT 3' y el primer antisentido (r2) estaba conformado por 5' CTT AAC TCC AAT CA AAT TAC C 3'. El perfil de ciclado térmico consistió en un paso inicial de desnaturalización a 94°C durante 10 minutos seguido de 32 ciclos a 94°C por 1 minuto, 54°C por 1 minuto, y 72°C por 2 minutos, con un paso final de extensión a 72°C por 7 minutos. Los productos amplificados fueron analizados por electroforesis durante 1 a 2 horas a 120-150V, en un gel con 1% de agarosa y 1 $\mu\text{g}/\text{ul}$ de bromuro de etidio. Cada pocillo se cargó con 25 μl de cada reacción y 5 μl de buffer de carga. Los geles fueron fotografiados bajo luz ultravioleta (sistema de imágenes Alpha Imager 2200, Alpha Innotech Corporation, San Leandro, CA, EEUU). En cada corrida se

incluyó un control *M. suis* positivo, un control *M. suis* negativo y un marcador estándar del tamaño molecular del ADN (HI-Lo DNA marker Minnesota Molecular, Minneapolis, MN, EEUU).

Para asegurar la extracción exitosa del ADN y que su amplificación no estuviera impedida por inhibidores, se realizó una PCR para el gen β -actina (gen de control interno). Los primers utilizados fueron: sentido, 5'-GGGACCTGACCGACTACCTC-3', y antisentido, 5'-TGTTGGCGTAGAGGTCCTTC-3'. El perfil de ciclado comenzó con una desnaturalización inicial de 5 minutos a 94°C, seguida de 35 ciclos de 30 segundos a 94°C, 30 segundos a 62°C, y 1 minuto a 72°C. Las muestras fueron guardadas a 4°C hasta su análisis. Los productos de 437pb fueron separados por electroforesis.

Todos los resultados de las reacciones de la PCR fueron confirmadas con un SB.

Southern Blot

Los geles provenientes de la PCR fueron sometidos a la desnaturalización con álcalis y neutralización estándares; los fragmentos de ADN se transfirieron a una membrana (Hybond-N+ RPN303B, Amersham Pharmacia Biotech, Arlington Heighers, IL, EEUU) cargada positivamente que fue incubada por 16 horas. El buffer de transferencia utilizado fue 10X SSC (1X SSC corresponde a cloruro de sodio 0,15M, citrato de sodio 0,15M). Un fragmento de 839pb del gen de ARNr 16S de *M. suis* fue amplificado por PCR usando el set de primers previamente descrito pero con el agregado de digoxigenina a uno de ellos. El producto fue purificado usando un kit de extracción (Qiaex II Gel Extraction Kit, Qiagen Inc, Valencia, CA, EEUU) y revelado por el método no radioactivo basado en la unión específica a la digoxigenina unida a uno de los primers (DIG Nucleic Acid Detection Kit, Roche Diagnostics Corporation, Indianapolis, IN, EEUU). Las membranas fueron prehibridizadas durante ≥ 10 minutos en buffer de hibridización comercial (PerfectHyb™Plus, Sigma-Aldrich Corp St Louis, MO, USA). Se llevó

a cabo durante 16 horas una hibridización bajo condiciones de estringencia a 68°C en el mismo buffer con la adición de aproximadamente 10ng/ml de la sonda marcada con digoxigenina. Las membranas fueron lavadas y reveladas de acuerdo al protocolo del fabricante para la detección por quimioluminiscencia y autorradiografía.

Análisis estadístico

Se examinaron los resultados surgidos del análisis para cuantificar la asociación entre estatus sanitario a la infección con *M. suis* y potenciales factores de riesgo de la enfermedad mediante la estimación de la razón de las ventajas u odds ratio (OR), utilizando una combinación de análisis de chi cuadrado y modelos de regresión logística. Un cerdo fue definido como infectado o positivo si la muestra de su sangre resultaba positiva por PCR y era confirmada por SB.

La variable dependiente (casos, controles) correspondió al resultado de la PCR (positivo, negativo). Las variables independientes incluyeron sexo (macho, hembra), región geográfica (Santa Fe, otra), categoría (lechón, recría, desarrollo, terminación y reproductores), lugar de muestreo (frigorífico, granja), antecedentes de anemia (sí, no), y condiciones de alojamiento (aire libre, confinado). Los factores de riesgo para los cuales fue estimado un $p < 0,1$ en un análisis de chi cuadrado, fueron incorporados en un análisis de regresión logística multivariada. De esta manera, el test de chi cuadrado sirvió como una especie de prueba tamiz para la detección de variables potencialmente significativas, lo que permite reducir el número de variables introducidas al modelo multivariado. En el modelo multivariado, las variables significativas ($p < 0,05$), fueron identificadas usando un algoritmo de pasos condicionales hacia adelante. El ajuste del modelo fue evaluado mediante estimación del estadístico de Hosmer-Lemeshow.

Se calculó la proporción real (PR) de animales infectados en la muestra examinada utilizando los valores de proporción aparente (PA) de positivos obtenidos con PCR aplicando la fórmula $PR = [PA + E - 1] / [S + E - 1]$, donde

S y E denotan la sensibilidad y especificidad de las pruebas diagnósticas utilizadas, respectivamente. Los valores de S y E de las pruebas fueron estimados en 98% y 94% respectivamente¹⁷.

Resultados

Ciento ochenta y cinco muestras de un total de 285 (65,1%) fueron positivas a la presencia de *M. suis* por PCR y SB. Como se muestra en la figura 1, se amplificó un fragmento de 893 pb del gen del ARNr 16S a partir del ADN extraído de la sangre de cerdos infectados por *M. suis*. Todas las muestras amplificaron un producto de 437pb del gen β -actina (datos no mostrados). Para confirmar la identidad de los productos de PCR, se llevó a cabo una hibridación por SB para cada producto amplificado (figura 2).

El valor estimado de PR fue mayor a 50% en todas las provincias, para un valor global de PR de 64% en el total de la muestra (tabla 1). Se calculó que la probabilidad estimada de asociación entre un resultado positivo a PCR y el sexo del animal muestreado, los antecedentes de anemia en el establecimiento y las condiciones de alojamiento era mayor a 0,1 en todos los casos (tabla 2). Debido a que en cambio, la probabilidad estimada de asociación entre un resultado positivo a PCR y las variables lugar de muestreo, origen geográfico y categoría productiva era menor a 0,1, éstas fueron incluidas en el análisis multivariado de regresión logística. El modelo que mejor ajustó los datos incluyó las variables origen geográfico y categoría productiva como variables dependientes, pero no lugar de muestreo (tabla 3). Así, los cerdos de Buenos Aires y Córdoba tuvieron en promedio 2,44 veces más riesgo de ser positivos a PCR ($p < 0,01$) que cerdos de Santa Fe. Por otra parte, los lechones y animales en recría tuvieron en promedio, respectivamente, 6,25 ($1/0,160=6,25$) y 2,65 ($1/0,378=2,65$) veces menos riesgo de ser positivos a PCR que animales en terminación y reproductores. Los animales en desarrollo tuvieron en promedio 8,3 veces más riesgo de ser PCR positivos que animales en terminación y reproductores. Los lechones versus el resto de las categorías tuvieron 6,6 veces menos riesgo de desarrollar enfermedad.

Discusión

La proporción de animales positivos a *M. suis* detectada en este estudio fue considerablemente superior a las evidencias serológicas de infección reportadas previamente en otros países en donde se demostró que aproximadamente el 20% de los animales eran seropositivos¹⁹. También son superiores a la mayoría de los escasos reportes previos en donde se utilizó la PCR para determinar la presencia de infección por *M. suis* en cerdos, aunque en ellos se analizó un número menor de muestras. En Brasil se estudiaron 186 cerdos de 4 criaderos comerciales: de 121 cerdas el 18,2% fueron positivas utilizando PCR y el 33,1% con SB; de 61 lechones sólo 1 estaba infectado y de 4 machos sólo 1 padrillo fue positivo⁴. Mientras tanto, en un trabajo europeo en el cual se desarrolló una PCR que podía detectar la porción de ADN que codifica para la proteína MSG1 implicada en la adhesión de *M. suis* al eritrocito, se analizaron 100 cerdas de Suiza detectándose 19 positivas y 160 cerdos de recría de Alemania de los cuales 17 fueron positivos⁸. Sin embargo, en un trabajo reciente realizado en China se determinó una prevalencia del 86% en la población de cerdos analizados¹¹. Debe considerarse que en todos los casos en donde se utilizó PCR, se estudiaron muestras de granjas en particular o de pequeñas poblaciones y que tanto en nuestro trabajo como en los referenciados en esta discusión, fue utilizado un muestreo no probabilístico que limita la extrapolación de los resultados a otras poblaciones.

Al contrario de lo que sucede en caninos y felinos en donde la prevalencia de infección con hemoplasmas no supera el 20% (21), en estudios realizados en ovinos de distintas zonas de Australia, utilizando una prueba de inmunofluorescencia indirecta (IFI) que detectaba anticuerpos contra *Mycoplasma ovis*, se obtuvieron en algunas zonas del país porcentajes de infección de alrededor del 50%¹⁶, muy similares a los encontrados en la zona central de Argentina en la especie porcina.

A pesar de la elevada PR detectada, los casos reportados de HP son escasos, por lo que podría

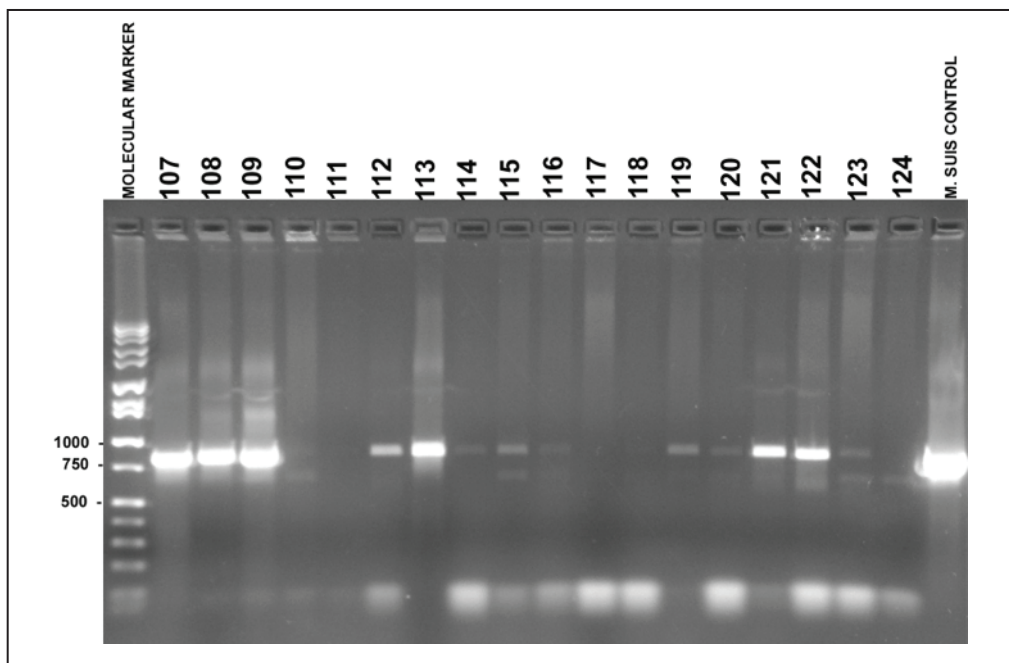


Figura 1-A

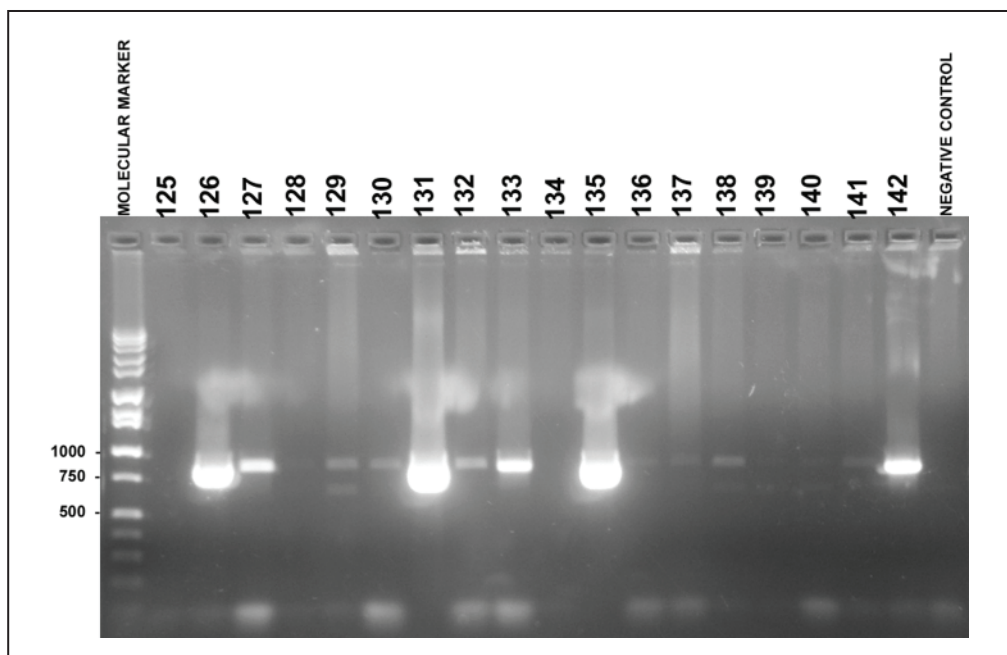


Figura 1-B

Figura 1. Reacción en cadena de la polimerasa. Reacciones positivas para las muestras 107 a 109, 112 a 116, 119 a 123 (1-A), 126, 127, 129 a 133, 135, 138 y 140 (muy débil) a 142 (1-B). Reacciones negativas para las muestras 110, 111, 117, 118 y 124 (1-A), 125, 128, 134, 136, 137 y 139 (1-B). Primera línea: marcador de peso molecular (1-A y 1-B). Última línea: control positivo (1-A) y control negativo (1-B) de *Mycoplasma suis*.

Tabla 1. Proporción aparente (PA) y real (PR) de animales infectados por *Mycoplasma suis* en las regiones estudiadas según los resultados positivos de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR+)

Región	n	Muestras PCR+	PA de infectados	PR de infectados
Santa Fe	156	88	0,564102	0,547938
Córdoba	79	56	0,70886	0,705283
Buenos Aires	49	41	0,836734	0,844277
Global	284	185	0,651408	0,642835

Tabla 2. Asociación bivariada entre la infección por *Mycoplasma suis* y factores de riesgo para la infección estimada mediante la prueba chi-cuadrado. El asterisco indica las variables seleccionadas para un análisis de regresión multivariado ($p < 0,1$)

Variable	Categoría	Casos	Controles	p
Región (*)				<0,01
	Córdoba y Buenos Aires	97	31	
	Santa Fe	88	68	
Categoría (*)				<0,01
	Lechón	4	13	
	Recría	15	18	
	Desarrollo	13	1	
	Terminación y Reproductores	153	67	
Sexo				0,45
	Macho	28	18	
	Hembra	54	26	
Lugar muestreo				0,08
	Frigorífico	134	62	
	Granja	51	37	
Anemia				0,94
	Con Antecedentes	18	10	
	Sin Antecedentes	169	91	
Alojamiento				0,11
	Aire libre	36	20	
	Confinamiento	24	25	

decirse que su presencia no tiene consecuencias importantes en las granjas. Sin embargo, si fuera capaz de actuar sinérgicamente con otros agentes tal como comprobadamente lo hacen otros micoplasmas y específicamente otros

hemoplasmas^{13, 21}, entonces su significación cambiaría hasta tornarse un factor a tener muy en cuenta en la salud y productividad de los cerdos. Efectivamente, en un estudio más amplio se lo ha visto asociado a otros agentes

Tabla 3. Asociación entre la infección por *Mycoplasma suis* y factores de riesgo para la infección estimada mediante una prueba multivariada de regresión logística

		P	OR	IC 95.0% OR	
Región	Santa Fe	NA	1	NA	
	Córdoba y Buenos Aires	0,001	2,445	1,435	4,168
Categoría	Terminación y reproductores	NA	1	NA	
	Lechones	0,002	0,16	0,049	0,52
	Recría	0,012	0,378	0,177	0,808
	Desarrollo	0,045	8,292	1,05	65,473

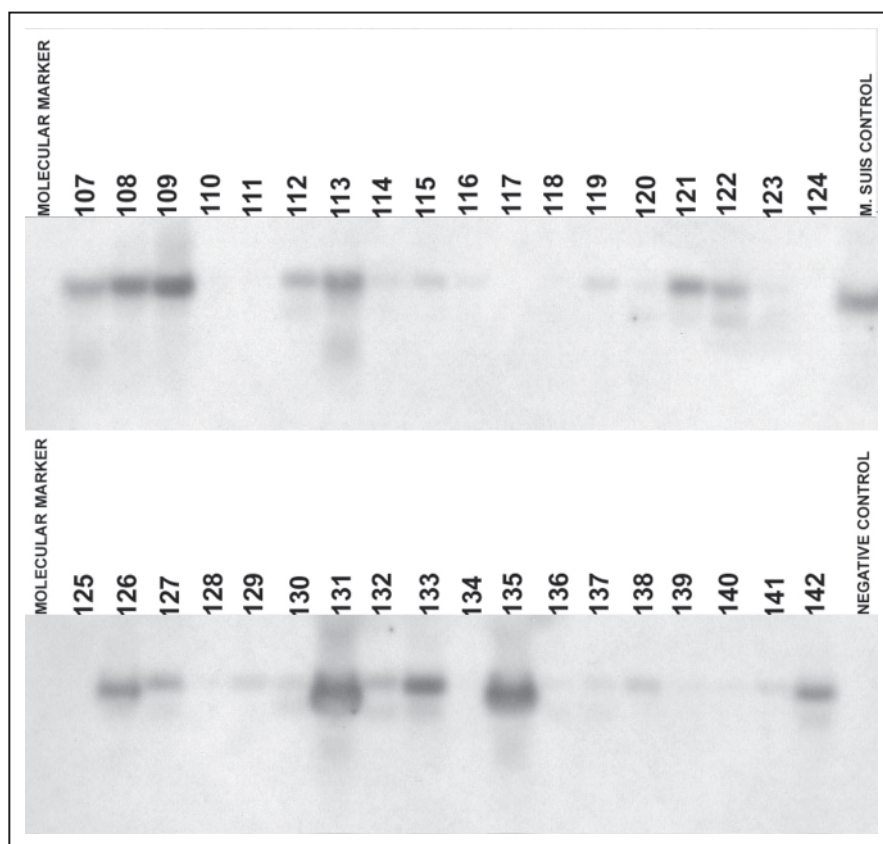


Figura 2. Southern blot. Confirmación de los resultados de la reacción en cadena de la polimerasa de las muestras de la Figura 1.

causantes de enfermedad^{17, 18} en la mayoría de los casos clínicos de HP analizados. El reporte escaso de casos clínicos puede atribuirse además a la práctica tan difundida de alimentar los cerdos con dietas que contengan oxitetraciclina. Hoy se conoce que la tilosina, antibiótico utilizado para muchas enfermedades de los cerdos, es también efectiva en casos de HP. Por otro lado, actualmente, la única metodología diagnóstica de la enfermedad en nuestro país es la observación microscópica de extendidos sanguíneos coloreados, por lo que seguramente se está subestimando la aparición de casos¹⁷. Como se sabe, la gran variabilidad en los niveles de bacteriemia limita la sensibilidad de esta prueba^{13, 14}.

El porcentaje de positivos detectado en Santa Fe fue significativamente menor que el de Córdoba y Buenos Aires. Esta diferencia no parece haberse debido a diferencias en el origen del muestreo (granja o frigorífico), ya que este factor no fue significativo en el análisis. Las razones para esta diferencia no están claras, ya que el sistema de producción de cerdos es similar en las tres provincias, de manera que serán necesarias investigaciones adicionales para investigar en profundidad estas diferencias¹⁷.

El porcentaje de infección fue menor en los animales jóvenes y se fue incrementando con la edad, lo que es lo mismo decir con la categoría productiva. Los animales en desarrollo, los de terminación y los reproductores, fueron las categorías con más posibilidades de ser PCR positivos, y de ellas, la de mayor riesgo se correspondió con la de cerdos en desarrollo. Posiblemente ese aumento se deba al progresivo contacto con ectoparásitos y fomites que hasta ahora se consideran responsables de la transmisión a partir de una fuente de infección⁵, tal como sucede con otros hemoplasmas^{13, 14, 21}. Sin embargo se admite que muchos aspectos de la transmisión de *M. suis* no están aclarados todavía. Por ejemplo, algunos trabajos mencionaron la posibilidad de transmisión de la bacteria desde la cerda al lechón, antes o durante el parto³, sin embargo en el exhaustivo trabajo de Heinritzi en el cual se investigó cada posible vía de transmisión, no

se pudo comprobar esa forma de diseminación⁵. Existe una comunicación de un caso en nuestro país en donde se observó *M. suis* en extendidos realizados a partir de sangre de recién nacidos², lo que constituiría un indicio en este sentido. Se puede mencionar también que los porcentajes de infección en las diferentes categorías productivas resultantes de una prueba de IFI desarrollada para detectar IgG contra *M. suis*, son similares a los de la PCR, excepto en la categoría lechones, donde son notablemente superiores¹⁷, lo que podría indicar la presencia de anticuerpos maternos, aunque tampoco está documentada la transmisión de inmunidad pasiva desde la madre al lechón.

Finalmente, no se encontraron diferencias significativas entre el porcentaje de animales infectados y el sexo de los mismos, ni con la existencia de antecedentes de anemia en la granja, ni con el sistema de crianza al aire libre o en confinamiento cuando estos datos eran conocidos. Lo último es coherente con el hecho de que el bienestar de los animales es independiente del tipo de instalaciones donde se alojen o del manejo: las condiciones estresantes como el hacinamiento o la presencia de enfermedades infecciosas y parasitarias pueden afectar a cualquier sistema de crianza¹⁷.

Conclusiones

El análisis por PCR de poblaciones porcinas de la Argentina en búsqueda de *M. suis*, constituye el primer estudio molecular sobre esta bacteria realizado en el país. Del mismo se desprende que el 64% de los individuos estaban infectados por lo que *M. suis* puede considerarse endémico en las poblaciones estudiadas, que la edad o categoría productiva y la región geográfica o procedencia de los cerdos constituyeron factores que favorecieron la infección, mientras que contrariamente, el tipo de alojamiento, el sexo y los antecedentes de anemia en las granjas no se pudieron relacionar con la aparición de cerdos positivos a *M. suis*. Si bien estos resultados sólo se aplican a las poblaciones estudiadas, aportan importante información para el entendimiento de la epidemiología de la enfermedad en la región.

Agradecimiento

A Therese Eggett de la Universidad de Illinois por su meticulosa asistencia a este proyecto.

Bibliografía

1. Anziani, O.; Ford, C.; Tarabla, H. Eperythrozoonosis porcina en la República Argentina. *Rev. Med. Vet.*; 1986; 67:99-101.
2. Arauz, M.; Pintos, M.; Stornelli, M.; *et al.* Estudio de la prevalencia de *Eperythrozoon suis* en granjas de producción intensiva de cerdos de la provincia de Buenos Aires. *14va Reunión Científico Técnica AAVLD, 2002*. Villa Gral Belgrano, Argentina.
3. Brownback A. Eperythrozoonosis as a cause of infertility in swine. *Vet. Med. Small. Anim. Clin.* 1981; 76:375-8.
4. Guimaraes, A.; Biondo, A.; Lara, A.; *et al.* Exploratory study of *Mycoplasma suis* (*Eperythrozoon suis*) on four commercial pig farms in southern Brazil. *Vet. Rec.* 2007; 160:50-3.
5. Heinritzi, K. Studies on the transmission of *Eperythrozoon suis*. *Tierarztl. Umsch.* 1992; 47:588-99.
6. Heinritzi, K. Eperitrozoonosis. En: Straw, B.; D'Allaire, S.; Mengeling, W.; Taylor, D. (eds), *Enfermedades del Cerdo*. 8va Edición. Intermédica, Buenos Aires, Argentina, 2000:363-7.
7. Henry, S. Clinical observations on Eperythrozoonosis. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 1979; 174:601-3.
8. Hoelze, L.; Adelt, D.; Hoelze, K.; *et al.* Development of a diagnostic PCR assay based on novel DNA sequences for the detection of *Mycoplasma suis* (*Eperythrozoon suis*) in porcine blood. *Vet. Microbiol.* 2003; 93:185-6.
9. Hoelze, L.E. Significance of haemotrophic mycoplasmas in veterinary medicine with particular regard to the *Mycoplasma suis* infection in swine. *Berl. Munch. Tierarztl. Wochenschr.* 2007; 120:34-41.
10. Kloster, A.; Descarga, C.; Davies, P.; *et al.* Eperitrozoonosis porcina: observaciones sobre la infección natural y experimental. *5to Congreso Argentino de Ciencias Veterinarias*, 1985. La Plata, Argentina.
11. Luang, C.; Liang, A.; Yao, C.; *et al.* Prevalence of *Mycoplasma suis* (*Eperythrozoon suis*) infection in swine and swine-farm workers in Shanghai, China. *Am. J. Vet. Res.* 2009; 70:890-4.
12. Messick, J.; Cooper, S.; Huntley, M. Development and evaluation of a polymerase chain reaction assay using the 16S rRNA gene for detection of *Eperythrozoon suis* infection. *J. Vet. Diagn. Invest.* 1999; 11:229-36.
13. Messick, J. Hemotrophic mycoplasmas (hemoplasmas): a review and new insights into pathogenic potencial. *Vet. Clin. Pathol.* 2004; 33:2-13.
14. Neimark H.; Johansson, K.; Rikihisa, Y.; *et al.* Proposal to transfer some members of the genera *Haemobartonella* and *Eperythrozoon* to the genus *Mycoplasma* with descriptions of "*Candidatus Mycoplasma haemofelis*", "*Candidatus Mycoplasma haemomuris*", "*Candidatus Mycoplasma haemosuis*" y "*Candidatus Mycoplasma wenyonni*". *Int.J. Syst. Evol. Microbiol.* 2001; 51 :891-9.
15. Neimark H.; Johansson, K.; Rikihisa, Y.; *et al.* Revision of haemotrophic *Mycoplasma* species names. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 2002; 52:683.
16. Nicholls, T.J.; Veale, P.I. The prevalence of *Eperythrozoon ovis* infection in weaner and adult sheep in north eastern Victoria. *Aust. Vet. J.* 1986; 63:1118-20.
17. Pereyra, N.B. Aspectos clínicos, epidemiológicos y terapéuticos de la hemoplasmosis (eperitrozoonosis) porcina. *Tesis Doctoral*, 2009. Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad de Buenos Aires, Argentina.
18. Pereyra, N.; Sarradell, J.; Cane, F.; *et al.* Detección de *Mycoplasma suis* en Casos Clínicos con el Síndrome del Desmedro Multisistémico Postdestete en Porcinos. *Rev. Arg. Microbiol.* 2006; 38:130-3.
19. Smith, A.; Tamra, R. An Indirect Hemagglutination Test for the Diagnosis of *Eperythrozoon suis* Infection in Swine. *Am. J. Vet. Res.* 1975; 36:1319-21.
20. Splitter, E.; Castro, E. Antibiotic therapy in acute Eperythrozoonosis of swine. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 1957; 131:293-4.
21. Willi, B.; Boretti, F.S.; Tasker, S.; *et al.* From Haemobartonella to hemoplasma: molecular methods provide new insights. *Vet. Microbiol.* 2007; 125:197-209.
22. Zinn, G.; Jese, G.; Dobson, A. Effect of eperythrozoonosis on sow productivity. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 1983; 182:369-71.