

21A
2ej



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

DIVISION DE ESTUDIOS PROFESIONALES
DE LA FACULTAD DE MEDICINA
VETERINARIA Y ZOOTECNIA

DETERMINACION DE LOS TIPOS CAP-
SULARES DE CEPAS DE Pasteurella
multocida AISLADAS DE PROBLEMAS
RESPIRATORIOS EN CERDOS.

T E S I S

Para la obtención del Título de:
Médico Veterinario Zootecnista

Presenta:

Martha Patricia Bizarro Nevares

Asesores: MVZ Concepción Díaz Rayo
MVZ Elda Jiménez Guerra MVZ Gerardo Iglesias Sahagún



Universidad Nacional
Autónoma de México



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 está 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.

CONTENIDO

	<u>Página</u>
RESUMEN.....	1
INTRODUCCION:.....	3
MATERIAL Y METODOS.....	6
RESULTADOS.....	9
DISCUSION.....	16
BIBLIOGRAFIA.....	19

RESUMEN

BIZARRO NEVARES MARTHA PATRICIA. Determinación de los tipos capsulares de cepas de Pasteurella multocida aisladas de problemas respiratorios en cerdos. (Bajo la dirección de: MVZ Concepción Díaz Rayo, MVZ Elda Jiménez Guerra y MVZ Gerardo Iglesias Sahagún).

Se estableció el tipo capsular de 100 cepas de P. multocida aisladas a partir de 22 exudados nasales, órganos de animales que presentaron cuadro clínico (38 pulmones y 3 ganglios mediastínicos), de muestras de rastro (13 pulmones y 2 ganglios mediastínicos) y de un cerebro, así como su relación con las lesiones observadas. La prevención de Pasteurelisis requiere del conocimiento de los serotipos involucrados con mayor prevalencia. Las células bacterianas fueron teñidas con cristal violeta y las bacterias procedentes de colonias rugosas fueron inoculadas a ratones y posteriormente se recuperaron de hígado, bazo y pulmón. A las cepas se les realizaron las pruebas de hialuronidasa y acriflavina para su tipificación. De los pulmones obtenidos en casos clínicos, el 45.7 % de las cepas aisladas se obtuvieron de pulmones con neumonía fibrinopurulenta siendo tipo A, y el 54.2 % fueron tipo D y las lesiones no correspondían a las típicas de Pasteurelisis aguda. De los exudados nasales, en el 82.6 % de las muestras se aislaron P. multocida tipo D y Bordetella bronchiseptica. Se informa el aislamiento de diferentes tipos capsulares (A y D) a partir de la misma muestra en el 6.3 % del total de las muestras. De las muestras de rastro se aisló el tipo A de 4 pulmones con neumonía fibrinopurulenta y de 9 pulmones con pleuropneumonía. Se concluye que los serotipos capsulares de P. multocida aislados con mayor frecuencia son A y D; que estos microorganismos están involucrados principalmente en problemas mixtos; que el serotipo A se asocia con problemas neumónicos agudos mientras que el tipo D con problemas crónicos y/o mixtos; y que en exudados nasales de cerdos con rinitis,

el mayor porcentaje perteneci6 al tipo D.

INTRODUCCION

Las enfermedades respiratorias en el cerdo son de los problemas infecciosos más importantes de la especie (17,28), ya que ocasionan alto índice de mortalidad, altos costos por medicación preventiva y curativa, baja ganancia de peso, retardo en el crecimiento, aumento de días a mercado y decomisos de canales en el rastro. Aproximadamente entre 30 y 60 % de los cerdos de abasto presentan alguna lesión neumónica (17,28), siendo Pasteurella multocida el agente que con mayor frecuencia se aísla de neumonías severas (7,28).

P. multocida se ha aislado con frecuencia de muestras del tracto respiratorio en animales aparentemente normales y requiere de un factor desencadenante para desarrollar la enfermedad (7,14,15,23,28). Este factor puede ser ambiental, de manejo o infeccioso; las causas ambientales están dadas por instalaciones inadecuadas que ocasionan bajas temperaturas, niveles de humedad inadecuados, así como mala ventilación, sobrepoblación, etc. (17); el transporte en los animales y la aplicación de medicamentos o vacunas son algunos factores de manejo predisponentes (28); como causas infecciosas están las alteraciones causadas por algunos virus (21), tales como cepas vacunales de cólera porcino y cepas virulentas de campo del virus de la enfermedad de Aujeszky (2,3,27,28).

En las neumonías se ha visto que P. multocida es uno de los agentes que produce lesiones severas, en comparación con otros agentes que no afectan al pulmón en forma grave, de tal manera que la capacidad respiratoria del cerdo se ve disminuida. P. multocida es un agente invasivo oportunista en las infecciones del tracto respiratorio profundo y puede ser más patógeno que el agente iniciador del cuadro neumónico (3,7,23,28). Las lesiones de Pasteurellosis son bronconeumonía purulenta, pleuritis fibrinosa, pericarditis, consolidación lobular y fluido en cavidad pleural (18).

La bacteria P. multocida es pequeña. en forma de coco o cocobacilo, Gram negativa, inmóvil, anaerobia facultativa, oxidasa y catalasa positivas, fermenta gran número de carbohidratos produciendo ácido pero no gas (14,20). En placas de agar la morfología colonial puede ser mucoide, lisa o iridiscente o bien rugosa o no capsulada (11,12). En cultivos primarios presenta cápsula, la cual no se tiñe y puede ser difícil de observar (14), ésta se pierde en subcultivos (12). La cápsula está compuesta de polisacáridos complejos y ácido hialurónico (16). Tanto la cápsula como la membrana de la bacteria juegan un papel importante en la virulencia de estos microorganismos por aumento de la resistencia a la fagocitosis (3,28).

P. multocida presenta antígenos capsulares (polisacáridos) y antígenos somáticos (lipopolisacáridos) (11), y se ha visto que muestran una estructura antigénica diferente, por lo cual Carter los separa en cuatro serotipos, A, B, D y E, en base a sus antígenos capsulares (11,12,13). En casos de infección se produce una fuerte reacción inmune a los antígenos capsulares, pero no hay reacción cruzada entre los diferentes serotipos (4,9,10,23,24)

En los cerdos los serotipos que se presentan son A y D (8,19,25,28), aunque Guo y col. encuentran también al serotipo B involucrado en casos de Pasteurellosis en el cerdo (19). El serotipo A es el que se aísla con mayor frecuencia de los pulmones del cerdo en casos de neumonía (22,25), mientras que el serotipo D se ha aislado de Rinitis Atrófica (7,8,12,29), aunque ambos tipos pueden afectar pulmones y cavidad nasal (8,22). Ambos tipos, A y D, han sido reportados en México (3, 23).

HIPOTESIS

Existe relación entre el serotipo capsular de P. multocida y el cuadro clínico observado.

OBJETIVOS

Establecer el serotipo capsular de 100 cepas de P. multocida aisladas a partir de exudados nasales y de órganos de cerdos que presentaron el cuadro clínico y de muestras obtenidas en rastro, y relacionarlos con las lesiones observadas.

JUSTIFICACIÓN

La infección por P. multocida es un padecimiento que debe ser prevenido; un programa exitoso de prevención requiere del conocimiento de los serotipos involucrados con mayor prevalencia.

MATERIAL Y METODOS

I Se estudiaron 100 cepas de P. multocida aisladas a partir de:

1) Organos de animales que presentaron cuadro respiratorio y que llegaron al Dpto. de Producción Animal: Cerdos (FMVZ, UNAM) para su diagnóstico.

a) Pulmón: 38 muestras.

b) Ganglios mediastínicos: 3 muestras.

2) Exudados nasales: 22 muestras.

3) Cerebro: una muestra.

4) Muestras obtenidas en rastro.

a) Pulmones: 13 muestras.

b) Ganglios mediastínicos: 2 muestras.

II Tinción de cápsula con cristal violeta (1).

Se hizo con la finalidad de verificar la presencia de cápsula en las cepas.

El colorante se preparó disolviendo 2 g de cristal violeta en 20 ml de alcohol absoluto y aparte 0.8 g de oxalato amónico en 80 ml de agua destilada, la mezcla subsiguiente de ambas soluciones constituye la solución madre, que inmediatamente antes de su empleo se diluyó a 1:40 en agua destilada.

Las cepas se sembraron en cajas de Petri con agar tripti casa soya y se incubaron a 37C durante 24 horas.

La tinción se realizó introduciendo en la caja la dilución del colorante durante 15 a 20 seg y, después de verter éste en un desinfectante, se examinaron inmediatamente con un microscopio estereoscópico. Las colonias lisas no tomaron el colorante, mientras que las rugosas se tiñeron en diversos to

nos de rojo y violeta.

III Inoculación de cepas rugosas de P. multocida a ratones.

Se usaron ratones de 21 días de edad libres de P. multocida; para verificarlo se sacrificaron dos animales al azar y se sembró en Gelosa Sangre muestras de las vísceras siguientes: hígado, bazo y pulmón.

Las cepas se sembraron en 2 ml de caldo infusión cerebro corazón y se incubaron a 37C durante 24 horas.

Se inocularon dos ratones por cada cepa con 0.1 ml del cultivo por vía intraperitoneal. Los animales murieron entre 24 a 48 h; las cepas fueron aisladas de hígado, bazo y pulmón, y se les practicó nuevamente la tinción de cristal violeta.

IV Prueba de hialuronidasa según el método de Carter y Rundles (16), el cual se describe a continuación.

El medio de cultivo se hizo en cajas de Petri con agar tripticosa soya que contuvo 6 % de sangre de bovino; es importante que el medio no esté deshidratado. Las cepas se sembraron transversalmente a través de toda la placa por estria continua. Se sembró una cepa de Staphylococcus aureus en una estria gruesa en ángulo recto a las estrias de la cepa de P. multocida. Las cajas se incubaron a 37C durante 24 h. En las cepas tipo A hubo una disminución en el tamaño de las colonias de P. multocida en la región adyacente al staphylococo.

V Prueba con acriflavina por el método de Carter y Subronto (13).

Las cepas se sembraron en agar sangre de bovino antes de la inoculación en 3 ml de caldo infusión cerebro corazón. Los

cultivos se incubaron a 37C por 24 h. Las bacterias se separaron por centrifugación a 3 000 rpm por 15 min y se eliminó 2.5 ml del sobrenadante. Se adicionó una solución acuosa de 1:1 000 de acriflavina neutra (0.5 ml) del caldo que contenía a las bacterias, se mezcló y se dejó el tubo a temperatura ambiente. Las cepas tipo D forman un precipitado floculento evidente después de 5 min que se asienta dejando un sobrenadante claro.

RESULTADOS

I Tinción de cápsula con cristal violeta.

A todas las células de las cepas aisladas se les realizó la tinción, en la cual se detectó que siete habían perdido su cápsula ya que presentaban un aspecto rugoso al teñirse de color violeta. Estas cepas fueron inoculadas a ratones.

II Inoculación de cepas rugosas de P. multocida a ratones.

Se inocularon dos ratones por cepa. Los animales murieron entre 24 a 48 h y las cepas fueron aisladas de hígado, pulmón y bazo. Al practicarse nuevamente la tinción de cristal violeta, se observó que cinco cepas recuperaron su cápsula y solamente dos cepas no la recuperaron, éstas últimas no se usaron en la investigación.

III Determinación de los tipos capsulares de las cepas aisladas por las pruebas de hialuronidasa y acriflavina.

Se aislaron 41 cepas tipo A y 59 cepas tipo D; de los pulmones obtenidos de los casos clínicos, el 45.8 % de los aislamientos fueron tipo A y el 54.2 % tipo D. En los exudados nasales el 82.6 % de los aislamientos correspondió al tipo D. En el 6.3 % de las muestras se aislaron ambos tipos capsulares de la misma muestra. De todas las muestras de rastro se aisló el tipo A.

El tipo capsular de cepas aisladas de P. multocida y el porcentaje de los tipos capsulares con base en el número de cepas aisladas se indica en el cuadro número 1. Los tipos cap

sulares A y D se encontraron en similar proporción en el pulmón, el 45.7 % de las cepas aisladas fue tipo A y el 54.2 % tipo D; mientras que de los exudados nasales, el tipo D se encontró en el 82.6 % de los aislamientos de P. multocida.

El número de cepas aisladas puede diferir del número de muestras en algunos cuadros, ya que de una placa se trabajaron todas las colonias con morfología colonial sugestiva de ser P. multocida y que al frotis fueran cocobacilos Gram negativos. Por esta razón, en nuestro estudio no es significativo el número de cepas de un tipo capsular que puedan existir en una muestra.

La relación existente entre órgano, lesión, tipo capsular y otros agentes aislados se muestra en el cuadro número 2. Es necesario mencionar que el cerebro del cual se aisló P. multocida fue remitido al Departamento con el propósito de detectar bacterias piógenas, y el haberlo incluido en la investigación no significa que este órgano sea de elección en la búsqueda de P. multocida ni mucho menos que sea un órgano donde con frecuencia se aisle.

Los casos en donde una misma muestra estuvieron presentes ambos tipos capsulares, A y D, se muestran en el cuadro número 3. El número de cepas en cada tipo capsular no es significativo por lo anteriormente explicado, pero sí muestra la importancia de analizar todas las colonias que pudieran estar presentes en una placa para detectar este tipo de casos.

Las muestras de rastro fueron colectadas por presentar lesiones neumónicas, cabe mencionar que nueve pulmones fueron colectados con la finalidad de aislar Haemophilus pleuroneumoniae ya que las lesiones eran sugestivas del mismo y de las cuales únicamente se aisló P. multocida (Cuadro número 4).

Los exudados nasales fueron obtenidos de animales de dos granjas en las que se ha detectado Rinitis Atrófica, y de los cuales, en el 82.6 % de las muestras se aisló P. multocida tipo D y Bordetella bronchiseptica (Ver el cuadro número 5).

Cuadro 1

DETERMINACION DE LOS TIPOS CAPSULARES DE Pasteurella multocida POR LAS PRUEBAS DE HIALURONIDASA Y ACRIFLAVINA.

ORGANO	NO. DE MUESTRAS	NO. DE CEPAS AISLADAS	TIPO CAPSULAR NO. DE CEPAS (% EN BASE EN EL NO. DE CEPAS)	
			A	D
Pulmones	51	70	32 (45.7)	38 (54.2)
Ganglios mediastínicos	5	6	5 (83.3)	1 (16.6)
Exudados nasales	22	23	4 (17.3)	19 (82.6)
Cerebro	1	1		1
Total	79	100	41 (41)	59 (59)

Cuadro 2

INTERRELACION DE ORGANO, TIPO DE LESION, TIPO CAPSULAR DE Pasteurella multocida Y OTROS AGENTES AISLADOS DE LAS MUESTRAS OBTENIDAS DE LOS CASOS.

ORGANO	LESION	NO. DE MUESTRAS	AISLAMIENTOS DE <u>P. multocida</u> (TIPO CAPSULAR)		OTROS AGENTES AISLADOS (NO. DE MUESTRAS DE LAS QUE SE REALIZO EL AISLAMIENTO)
Pulmones	Neumonía fibrinopurulenta	13	16 (A)		
	Neumonía abscedativa	2	3 (D)		<u>S. bronchiseptica</u> (2)
	Congestión	1	1 (D)		<u>S. choleraesuis</u> (1)
		1	1 (D)		<u>E. rhusiopathiae</u> (1)
	Consolidación	1	3 (D)		<u>Metastrongylus spp.</u> (1)
		2	2 (D)		Enfermedad de Aujeszky * (2)
	Pleuropneumonía	8	11 (D)		<u>H. pleuropneumoniae</u> (8)
	Sin lesión sugestiva de Pasteurellosis	6	8 (D)		
Ganglios mediastínicos	Aumento de tamaño y congestión	2	1 (A)	1 (D)	<u>H. pleuropneumoniae</u> (1)
Cerebro	Congestión	1	1 (D)		
	Total	37	17 (A)	31 (D)	16 muestras

* La Enfermedad de Aujeszky se diagnosticó por histopatología.

Cuadro 3

CASOS CON LESIONES DE PASTEURELOSIS DE LAS QUE SE AISLO Pasteurella multocida TIPOS A Y D.

CASO	ORGANO	NO. DE MUESTRAS	TIPO CAPSULAR	
			A	D
A	Pulmón	1		2
	Ganglio mediastfnico	1	2	
B	Pulmón	1	1	5
C	Pulmón	1	1	1
D	Pulmón	1	1	1
Total		5	5	9

Cuadro 4

MUESTRAS DE RASTRO CON LESIONES NEUMONICAS DE
LAS QUE SE AISLO Pasteurella multocida TIPO A

ORGANO	TIPO DE LESION	NO. DE MUESTRAS
Pulmones	Neumonía fibrinopurulenta	4
	Pleuroneumonía	9
Ganglios mediastínicos	Aumento de volumen y congestión	2
Total		15

Cuadro 5

**TIPOS CAPSULARES DE Pasteurella multocida AISLADAS DE
EXUDADOS NAALES DE CERDOS DE GRANJAS CON RINITIS ATRO
FICA.**

NO. DE MUESTRAS	TIPO CAPSULAR	OTROS AGENTES AISLADOS (NO. DE MUESTRAS DE LAS QUE SE EFECTUO EL AISLAMIENTO)
4	A	
19	D	<u>Bordetella bronchiseptica</u> (19)
23	Total	

DISCUSION

Existen cuatro tipos capsulares de P. multocida, A, B, D y E (11,12,13), de éstos, se ha reportado que en cerdos los más frecuentes son A y D (8,19,25,28). Los resultados obtenidos de las muestras trabajadas concuerdan con esto, puesto que 41 cepas fueron tipo A y 59 tipo D.

P. multocida es conocida por las lesiones de tipo neumónico que produce (3,7,23,28), en el presente trabajo se aisló a partir de 51 pulmones, de los cuales 13 mostraban neumonía fibrinopurulenta, 2 neumonía abscedativa, 2 congestión, 2 con solidación, 8 pleuropneumonía y 6 sin lesión sugestiva de Pasteurelosis; y de las muestras de rastro, 4 con neumonía fibrinopurulenta y 9 con pleuropneumonía. Algunos autores informan que las lesiones neumónicas severas, correspondientes al cuadro agudo de Pasteurelosis, están asociadas al tipo capsular A (22,25), lo cual coincide con los resultados puesto que de los 17 pulmones con neumonía fibrinopurulenta se aisló este serotipo.

Sin embargo se menciona que no sólo el tipo A se encuentra en pulmón, sino también el tipo D (8,22), en el presente trabajo se encontró al tipo D en el 54.2 % de los aislamientos de pulmones de casos clínicos, aunque éstos fueron a partir de pulmones sin lesiones agudas de Pasteurelosis o con lesiones de tipo crónico; de hecho, las muestras de rastro sugieren que estos animales presentaron neumonía insuficiente para ocasionar la muerte. Ha sido reportado que entre 30 y 60 % de los cerdos de abasto presentan lesiones neumónicas siendo el agente que con mayor frecuencia se aísla de neumonías severas P. multocida (28). Esto repercute en la producción de los animales enfermos de neumonía originando altos costos por medicación, aumento de consumo de alimento, aumento de días a mercado y el deceso de canales (17,28).

Esta ampliamente comprobado que la neumonía donde se in volucra P. multocida ocurre como evento final de una secuencia iniciada por factores físicos o químicos causantes de una alteración primaria, debido a la cual, en muchos casos, se presenta la proliferación de un patógeno primario y los daños causados por éste son suficientes para permitir la proliferación de P. multocida (7,14,15,23,28).

Un germen que puede considerarse como patógeno primario en este tipo de infección mixta es Haemophilus pleuropneumoniae (26). En este caso existe gran probabilidad que esta sea la interacción real, puesto que 9 muestras fueron colectadas para aislamiento de H. pleuropneumoniae y de las cuales se aisló P. multocida tipo D.

Así mismo, otro agente que puede ser patógeno primario es el virus de la Enfermedad de Aujeszky (2). Cabe mencionar que algunas de las cepas del virus causan neumonía por sí solas (6), en la cual se observa severa necrosis pulmonar, bronquitis, bronquiolitis y alveolitis (5), y otras cepas pueden provocar neumonía bacteriana como secuela de la infección (6) por tener acción sobre los mecanismos de defensa inespecíficos (2,6); de estas cepas, no productoras de lesiones en el tracto respiratorio, el virus puede ser recuperado de la tráquea en estados tempranos de la infección y más tarde de pulmones (6). Las muestras estudiadas parecen corresponder al segundo caso pues las lesiones no fueron las producidas por las cepas causantes de neumonía, sino que sugieren la asociación virus de la Enfermedad de Aujeszky-P. multocida (2).

En un caso del cual se aisló P. multocida tipo D, se encontró presente el parásito Metastrongylus spp. y es muy probable que las lesiones producidas por el parásito favorecieron la proliferación de la bacteria. Se ha comentado que los parásitos localizados en pulmón favorecen el desarrollo de la Paratuberculosis por la lesión traumática producida (18).

En otros casos también se aislaron de algunos pulmones

Salmonella choleraesuis y Erysipelothrix rhusiopathiae de los mismos de donde se aisló P. multocida tipo D. Estos pulmones pertenecieron a animales con signos de septicemia y muerte súbita; se ha descrito que tanto en Erisipela como en Salmonelosis agudas y sobreagudas puede existir congestión y cianosis en pulmón (30,31). En este caso se deduce que las alteraciones podricidas por estos agentes favorecieron el desarrollo de P. multocida.

Por otra parte, en el presente trabajo se reporta el aislamiento de bacterias de diferente tipo capsular a partir de la misma muestra, esto ocurrió en el 6.3 % del total de las muestras trabajadas. Es posible que estos resultados difieran de los encontrados en otros laboratorios siendo la causa de esto la metodología de aislamiento utilizada.

Ha sido reportado que el tipo D toxigénico frecuentemente se aísla de casos de Rinitis Atrófica junto con Bordetella bronchiseptica (29); esto coincide con los resultados ya que en el 82.6 % de los exudados nasales se aislaron ambos agentes, lo que nos hace pensar que Rinitis Atrófica y P. multocida tipo D están ligadas naturalmente.

En el presente trabajo se llegó a las siguientes conclusiones:

- a) En los cerdos los serotipos capsulares de P. multocida aislados con mayor frecuencia son A y D.
- b) Estos microorganismos están involucrados principalmente en problemas mixtos.
- c) El serotipo A se asocia con problemas neumónicos agudos mientras que el tipo D en problemas crónicos y/o mixtos.
- d) En exudados nasales de cerdos con rinitis, el mayor porcentaje perteneció al tipo D.

LITERATURA CITADA

- 1.- Alton, G.G.; Jones, L.M. y Pietz, D.E.: Las técnicas de laboratorio en la Brucelosis. 2a. Ed. Organización Mundial de la Salud. Ginebra, Suiza. 1976.
- 2.- Badiola S., J.J.; González G., S. y Pujols R., J.: Relación virus de Aujeszky-Pasteurella multocida en pulmones neumónicos colectados en rastro. Memorias del II Congreso Nacional AMVEC. Mazatlán, Sin., México 1984. pg. 9-11.
- 3.- Badiola S., J.; Ciprián C., A.; Mendoza E., S. y Pujols R.: Determinación del tipo capsular y patogenicidad en ratones de Pasteurella multocida. Memorias de la Reunión de la Investigación Pecuaria en México 1984. pg. 168. Departamento de Divulgación Científica y Técnica INIP-SARH. Cuajimalpa, D.F.
- 4.- Barneu, A.; Mukkur, T.K.S. and Pyliot, S.N.A.: Posible inmunológico sinergismo among the protective antigens of Pasteurella multocida type A. J. of Comparative Pathology 92:249-260 (1982).
- 5.- Baskerville, A.: The histopatology of experimental pneumonia in pigs produced by Aujeszky's Disease Virus. Res. Vet. Sci. 14:223-228 (1973).
- 6.- Baskerville, A.; Dow, C and Mc Ferran, J.: Aujeszky's Disease in pigs. The Vet. Bulletin 43:465-480 (1973).
- 7.- Bentley, D.E. and Farrington, D.O.: Evaluation of and induced Pasteurella multocida Swine pneumonia model. Am. J. V. Res. 41:1870-1973 (1980).
- 8.- Bhasm, J.L.; Binnington, B.D.; Kierstead, M.E.; Nicholson, V.M.; Percy, D.M.; Prescott, J.E. and Sanford, S.E.: Serotypes and antimicrobial susceptibility of Pasteurella multocida isolated from cattle and pigs in Ontario. Canadian Vet. J. 25:117-118 (1984).
- 9.- Camacho M.J.; Fuerte F., M. y Hernández B., E.: Estudio

al microscopio electrónico de barrido de la actividad de la sustancia bactericida secretada por explantes traqueales de embrión de cerdo sobre Pasteurella multocida. Memorias del II Congreso Nacional AMVEC Mazatlán, Sin., México 1984. pg. 23 y 24.

- 10.- Camerón, C.M.; Pienar, L. and Vermeulen, A.S.M.: Lack of cross-immunity among Pasteurella multocida type A strains. J. of Vet. Res. 42:213-219 (1980)
- 11.- Carter, G.R.: Studies on Pasteurella multocida. I A hemagglutination test for identification of serological types. Am. J. V. Res. 16:481-484 (1955).
- 12.- Carter, G.R.: Identification of antigenic characteristics and colonial variants of Pasteurella multocida. Am. J. V. Res. 18:210-213 (1957).
- 13.- Carter, G.R. and Subronto, P.: Identification of Type D strains of Pasteurella multocida with Acriflavine. Am. J. V. Res. 34:293-294 (1973).
- 14.- Carter, G.R. and Mc Allister, H.A.: An Aerogenic Pasteurella like organism recovered from swine. Am. J. V. Res. 35:917-922 (1974).
- 15.- Carter, G.R.- Conner, G.H. and Prodjo Harjono, S.: Serologic study of bovine strains of Pasteurella multocida. Am. J. V. Res. 35:111-114 (1974).
- 16.- Carter, G.R. and Rundell, S.W.: Identification of Type A strains of Pasteurella multocida using staphylococcal hyaluronidase. Vet. Rec. 96:343 (1975).
- 17.- Doporto D.: Las enfermedades respiratorias y el cerdo. Porcira No. 57:35-38 (1977).
- 18.- Farrington, D.O.: Pneumonic Pasteurellosis, Diseases of Swine. Edit. by Leman, A.D.; Glock, R.D.; Mengeling, W.L.; Penny, R.H.C.; Scholl, E. and Straw, B. 6th Ed. 436-439, Iowa State University Press. Ames, Iowa, USA. 1986.
- 19.- Guo, D.H.; Pan, S.N. and Zheng, M.: Capsular Types of Pasteurella multocida isolated from swine pasteurellosis in China. Collected Papers of V. Res. 6:37-42 (1980).

- 20.- Heddleston, K.L.: Physiologic characteristics of 1268 cultures of Pasteurella multocida. Am. J. V. Res. 37: 745-747 (1976).
- 21.- Hernández B., E.; Iglesias S., G. y Pijoan A., C.: Interacción entre virus vacunales y bacterias en el aparato respiratorio. Porcivama 8:5-23 (1983).
- 22.- Hilley, H.D.; Morrison, R.B. and Pijoan, C.: Serotyping of Pasteurella multocida isolated from swine lungs collected at slaughter. J. Clin. Microbiology 17:1070-1076 (1983).
- 23.- Iglesias, G.; Larios, F.; Monroy, J. and Pijoan, C.: Epidemiology and immunity in locally infected pigs with Pasteurella multocida. International Pig Veterinary Society Congress México 1982. pg. 83. Edit. by Necoechea, R.R.; Pijoan, C.; Casarín, A. and Guzmán, M.
- 24.- Kodama, H.; Matsumoto, M. and Snow, L.M.: Immunogenicity of capsular antigens of Pasteurella multocida in turkeys. Am. J. V. Res. 42:1838-1841 (1981).
- 25.- Lastra, A.; Leman, A.D.; Pijoan, C. and Ramírez, C.: Isolation of toxigenic strains of Pasteurella multocida from lungs of pneumonic swine. J. A. V. M. A. 85:522-523 (1984).
- 26.- Nicolet, J.: Haemophilus Infections, Diseases of Swine. Ed. by Leman, A.D.; Glock, R.D.; Mengeling, W.L.; Penny, R.H. C.; Scholl, E. and Straw, B. 6th Ed. 430-431, Iowa State University Press. Ames, Iowa, USA. 1986.
- 27.- Ochoa, G. y Pijoan, C.: Predisposición a la Pasteurellosis pulmonar del cerdo, debida a la vacunación con cepas virulentas atenuadas del virus del cólera porcino. I Congreso Latinoamericano de Veterinarios Especialistas en Cerdos. XIII Convención AMVEC, México, D.F. (1977).
- 28.- Pijoan, C.: Etiología, inmunidad y patogenia de las enfermedades respiratorias del cerdo. Med. Vet. 1:517-524 (1984).
- 29.- Ruttler, J.M.: Virulence of Pasteurella multocida in Atro-

phic Rhinitis of gnotobiotic pigs infected with Bordetella bronchiseptica. Res. in Veterinary Science 34:287-295 (1983).

- 30.- Welcock, B.P.: Salmonellosis, Diseases of Swine. Edit. by Leman, A.D.; Glock, R.D.; Mengeling, W.L.; Penny, R.H.C.; Scholl, E. and Straw, B. 6th Ed. pg. 512. Iowa State University Press. Ames, Iowa, USA. 1986.
- 31.- Wood, R.L.: Erysipelas, Diseases of Swine. Edit. by Leman, A.D.; Glock, R.D.; Mengeling, W.L.; Penny, R.H.C.; Scholl, E. and Straw, B. 6th Ed. Iowa State University Press. Ames, Iowa, USA. 1986.