



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTONOMA DE MEXICO

Facultad de Estudios Superiores
"Cuautitlán"



"PERFIL SEROLOGICO OBTENIDO CON PLEUROTTEST EN
UNA GRANJA CON PROBLEMAS DE PLEURONEUMONIA
CONTAGIOSA PORCINA"

M. A. M.
FACULTAD DE ESTUDIOS
SUPERIORES-CUAUTITLAN



T E S I S

DEPARTAMENTO DE
EXAMENES PROFESIONALES

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE,

MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

P R E S E N T A,

MISAE L GARITA OLVERA

Directores: Dr. Abel Ciprián Carrasco
M. en C. Susana Mendoza Elvira

CUAUTITLAN IZCALLI, EDO.DE MEX.

1993

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN



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.

I N D I C E

	página
Resumen	3
1.0 Introducción.	6
1.1 Definición de la enfermedad	7
1.2 Etiología	7
1.3 Generalidades	8
1.4 Epizootiología	13
1.5 Especies susceptibles	17
1.6 Patogenia	18
1.7 Signos clínicos	19
1.8 Diagnóstico	21
1.8.1 Diagnóstico clínico	22
1.8.2 Diagnóstico por lesiones patológicas	23
1.8.3 Diagnóstico bacteriológico	24
1.8.4 Diagnóstico serológico	24
1.8.5 Situación del diagnóstico en México	26
1.8.6 Paquete tecnológico denominado PLEUROTTEST	27
1.9 Programa de vacunación	29
1.10 Tratamiento y control	31
1.11 Justificación	33
2.0 Objetivo general	33
2.1 Objetivos particulares	33

Indice continuación	página
3.0 Material y Métodos.	34
3.1 Lugar de trabajo	34
3.2 Animales	34
3.3 Muestreo	34
3.4 Pleurotest	35
3.5 Aislamiento bacteriológico	35
3.6 Preparación de autobacterina	35
3.7 Medidas preventivas	36
4.0 Resultados.	37
5.0 Discusión.	44
6.0 Conclusión.	48
7.0 Bibliografía.. . . .	49

RESUMEN

La presente investigación tuvo como objetivo primordial determinar el punto de infección de Actinobacillus pleuropneumoniae, mediante el ensayo serológico PLEUROTEST en una granja porcina de ciclo completo, para conocer los diferentes serotipos de A. pleuropneumoniae, y proceder a vacunar y/o tratar con antibióticos.

El estudio se realizó en una granja de 180 vientres con problemas de Pleuroneumonia Contagiosa Porcina, con una mortalidad por PCP de 35%. Se realizaron tres muestreos estratificados con intervalos de 4 meses entre ellos, usando 50 sueros de cada una de las etapas (destete, crecimiento, desarrollo y finalización). Todos los sueros colectados fueron probados con la prueba serológica de PLEUROTEST, empleando antígeno de A. pleuropneumoniae serotipos : 1, 2, 3, 5, 7 y 9. El primer muestreo serológico reveló que en la etapa I, el serotipo 7 (27%) prevaleció sobre los otros, sin embargo, fue decreciendo hasta la etapa IV. En la etapa II, el serotipo que prevaleció fue el 3 (56%) y se mantuvo en las siguientes etapas; además los serotipos 1 y 9 en las etapas I y IV se comportaron en forma similar (4 y 44% para el 1 y 4 y 42% para el 9

respectivamente). En la etapa III, los serotipos predominantes fueron: 1 (32%); 3 (24) y 5 (20%).

En la etapa IV, nuevamente aumentaron los serotipos 1 (44%); 3 (50%) y 9 (42%) y decrecieron los serotipos 5 (14%) y 7 (2%). El serotipo 2 no fue identificado en esta granja. En las etapas II y IV se localizaron los principales puntos de infección de *A. pleuropneumoniae*, se aplicaron solo medidas profilácticas.

El segundo muestreo estratificado se encontró que la etapa 1 el serotipo 5 (18%) prevaleció sobre los otros, sin embargo, fue decreciendo hasta la etapa IV, el serotipo 7 solo prevaleció en esta etapa, pero en bajo porcentaje; los serotipos 1 y 9 en todas las etapas se comportaron en forma similar (11, 8, 11 y 11% para el serotipo 1 y 12, 7, 10 y 11 % para el serotipo 9); en la etapa III, el serotipo predominante fue el 3 (8%); en la etapa IV, los resultados fueron similares a los de la etapa III, se aplicaron las medidas de medicación en la lactancia y destete y medidas de profilaxis en las etapas I y II.

En el tercer muestreo estratificado se encontró que en la etapa I los serotipos 1 y 9 (9 y 7 % respectivamente) aunque disminuyeron en porcentaje, estos prevalecieron sobre los otros. El serotipo 7 solo prevaleció en la etapa I, y bajo en las siguientes. En la etapa II, aumentaron drásticamente

los serotipos 1 y 9 (33 y 32 % respectivamente), y aparece el serotipo 5 (14 %). En la etapa III, bajan nuevamente los serotipos 1 y 9 (8 y 10 % respectivamente) pero aumenta el 5 (18 %), finalmente en la etapa IV todos los serotipos disminuyen a menos del 10 %.

Con la serología del primer muestreo, se localizó el punto de infección, las medidas aplicadas fueron adecuadas, comprobándose con el segundo muestreo, pero el descuido contribuyó a que nuevamente surgiera la enfermedad, como se demostró con el resultado del tercer muestreo.

1.0 I N T R O D U C C I O N

La enorme concentración de animales de diversa procedencia en un espacio reducido, es una característica común en la mayoría de las explotaciones porcinas en México, esto de hecho tiene implicaciones definitivas en el establecimiento y diseminación de enfermedades infecciosas sobre todo aquellas cuya transmisión es por contacto directo (ya sea vía oral o respiratoria), este es el caso de la Pleuroneumonía Contagiosa Porcina (PCP).

Se ha estimado que las pérdidas económicas ocasionadas por esta enfermedad son mayores que las producidas por cualquier otra enfermedad respiratoria (55).

1.1 DEFINICION DE LA ENFERMEDAD.

La PCP es una enfermedad devastadora, que causa grandes pérdidas económicas, debido principalmente a su alta mortalidad y a una pobre conversión alimenticia en los animales infectados crónicamente. La enfermedad puede cursar en forma hiperaguda, aguda o crónica. La lesión aguda característica es una neumonía hemorrágica necrosante, asociada a una pleuritis fibrinosa, con adherencias, mientras que la lesión crónica se distingue por una consolidación pulmonar, infarto y encapsulamiento del tejido (1, 8, 11, 14, 32, 35, 43, 46, 48, 49, 56).

1.2 ETIOLOGIA

Las primeras observaciones de esta enfermedad fueron hechas por Pattison y cols. (40), Mathews and Pattison en 1961, y Olander (10). Posteriormente Shope (49, 50) describió una infección sobreaguda similar en granjas en Argentina.

La bacteria Actinobacillus pleuropneumoniae es el agente etiológico único, que actualmente se considera como responsable de la Pleuroneumonía Contagiosa Porcina a diferencia de otras neumonías. Estudios realizados sobre las bases fenotípicas y sobre el ácido desoxirribonucleico (ADN) de esta bacteria, hicieron que se transfiera de la especie Haemophilus pleuropneumoniae a la especie Actinobacillus pleuropneumoniae biovariedad 1 si es dependiente de nicotinamida adenina dinucleótido (NAD) y la especie Pasteurella haemolytica like a la especie Actinobacillus pleuropneumoniae y biovariedad 2 si no es dependiente de NAD (3, 9, 10, 20, 23, 35, 40, 42, 43, 46, 48).

1.3 Generalidades.

El A. pleuropneumoniae es una bacteria gram negativa y pleomórfica, generalmente como bacilo corto en pequeñas cadenas encapsulado, que mide de 0.3 a 1.5 μm de largo por 0.3 μm de ancho, es una bacteria que carece de flagelos y no produce esporas, sin embargo, posee fimbrias citoadherentes (31).

La cápsula conforma la capa más externa de la superficie de la bacteria y no se elimina fácilmente mediante un simple lavado, además de ser la responsable de la especificidad del serotipo, a la fecha se reconocen diez serotipos designados con

números arábigos de 1 al 10; se han designado otros dos serotipos el 11 y el 12, pero aún el estatus del serotipo 11 no está claro (13, 19, 29, 30, 32, 34, 35, 38, 54, 57). La composición y estructura de las cápsulas de los primeros nueve serotipos se han determinado, y en el caso de los serotipos 1, 2, 3, 5 y 6 se ha encontrado que están compuestas de unidades repetidas de dos o tres carbohidratos comunes o aaminados tales como: galactosa, glucosa, N-acetilgalactosamina y N-acetil-glucosamina. Los anticuerpos generados contra la cápsula, solo pretegen contra la muerte, pero no contra las lesiones pulmonares o la infección crónica. La virulencia atribuida a la cápsula es variable entre los diferentes serotipos, sin embargo, aún no se conoce por completo el papel patogénico de la cápsula.

Una característica fundamental de este microorganismo es la de depender de NAD, factor de crecimiento conocido como V, no requiere del factor de crecimiento X (hemina) presente en los medios enriquecidos con sangre (21,35,36).

Para los aislamientos primarios es importante que el NAD se proporcione in situ por otro microorganismo, mediante una estria sobre cultivo sospechoso de A. pleuropneumoniae, dicho fenómeno se conoce como satelitismo. Entre los microorganismos que sirven como cepas nodrizas se encuentran: Staphylococcus aureus, Staphylococcus albus, Streptococcus faecalis especies del genero Bacillus y especies del genero Pseudomonas. El empleo de Staphylococcus aureus nos permite observar además de la dependencia, el fenómeno de Christie, Atkins y Munch-Petersen (CAMP) en donde la beta hemolisis de la toxina-B del estafilococo actúa en forma sinérgica con la cohemolisina del Actinobacillus pleuropneumoniae sobre placas de agar sangre; también crece sobre agar cerebro corazón con la cepa nodriza, otras características bioquímicas son resumidas en el Cuadro 1, y en el Cuadro 2 se resumen algunos de los factores de virulencia más importantes de esta bacteria. (7,14,15,18,20,27,47).

CUADRO 1. CARACTERISTICAS BIOQUIMICAS DE
Actinobacillus pleuropneumoniae

PRUEBA	RESULTADO
Satelitismo con cepa nodriza	+
Dependencia NAD	+
Dependencia de Hemina	-
Fenómeno CAMP	+
Hemólisis	+
Catalasa	Dudoso
Oxidasa	Dudoso
Ureasa*	+
Nitratos*	+
Acido a partir de carbohidratos*	
D (+) glucosa	+
D (+) manosa	+
D (+) manitol	+
D (-) fructuosa	+
maltosa	+
D (-) sorbitol	-
ducitol	-
meso inositol	-
Fosfatasa alcalina	+
SIM*	
sulfhídrico	+
indol	-
motilidad	-
Citrato	-

*Suplementado con extracto fresco de levadura.

FUENTE: Ciprián y cols. 1992

CUADRO 2. FACTORES DE VIRULENCIA DE *Actinobacillus pleuropneumoniae* Y SU ACTIVIDAD BIOLÓGICA.

FACTOR	ACTIVIDAD BIOLÓGICA
CAPSULA	ANTIFAGOCITARIA INHIBE LA ACTIVIDAD BACTERICIDA DEL SUERO
ENDOTOXINA	ENDOTOXEMIA REACCION DE SCHWARTZMAN, LOCAL Y SISTEMICA
EXOTOXINAS	CITOTOXICA HEMOLITICA REPRODUCCION DE OTRAS LESIONES
CITOTOXINAS	
HEMOLISINAS	HEMOLITICA CITOTOXICA LETAL PARA EL CERDO Y ANTIFAGOCITARIA
FACTOR DE PERMEABILIDAD	EDEMOGENICA NO HEMOLITICA
INMUNOGLOBULINA PROTEASA	ROMPE LA IgA SECRETORA
RESISTENCIA ANTIMICROBIANA	PRINCIPAL HACIA: AMPICILINA, ESTREPTOMICINA SULFADIAZINA, ENTRE OTROS.

Fuente: Adaptado por Ciprián de Bertram (1990).

Al parecer, las exotoxinas juegan un papel muy importante en la virulencia y patogénesis de la infección causada por Actinobacillus pleuropneumoniae ya que se ha demostrado que los anticuerpos producidos contra las proteínas de la membrana externa solo protegen parcialmente contra la enfermedad, y que los preparados con hemolisinas reducen significativamente la mortalidad y el porcentaje de pulmones afectados por la enfermedad (7,12,27,47), aunado a ésta, la pleurotoxina también parece tener importancia en la virulencia de la enfermedad (47).

1.4 EPIZOOTIOLOGIA.

La Pleuroneumonía Contagiosa Porcina está ampliamente distribuida en el mundo y su importancia epizootiológica está correlacionada estrechamente con la industrialización de la producción de cerdo, fué primeramente reportada en: Inglaterra (36,43), Argentina (45,46) y en Estados Unidos (12). Posteriormente fue reportada en prácticamente todos los países Europeos, en varias partes de Estados Unidos, Canadá y México (10,45). En el cuadro 3 observamos la distribución de la bacteria en el mundo (8).

En México, a partir de 1976, se observaron neumonías epizoóticas en las granjas porcícolas del estado de Tlaxcala y del Bajío, con una elevada morbilidad (80-90%) y mortalidades de 10 al 30%, inicialmente afectó a los cerdos adultos y con el tiempo se fue quedando como una infección enzoótica en los lechones. De este brote el Dr. Pijoán y colaboradores aislaron e identificaron *Haemophilus parahemolyticus* _____ (pleuropneumoniae) (41), posteriormente la enfermedad se diseminó en otros estados de la República causando serios problemas a la porcicultura nacional. Ciprián y col. (1988) encontraron que el serotipo más comunmente encontrado fue el 9, el cual se considera el responsable de los brotes más severos de pleuroneumonía en el campo, sin embargo también otros serotipos han sido aislados en los diferentes estados de la República, como se puede apreciar en el Cuadro 4. Dos de los serotipos identificados, correspondieron con el serotipo 8 el cual no ha sido identificado previamente en el continente americano; actualmente se está trabajando para verificar si corresponde al serotipo 8 o es producto de una reacción cruzada con 3 ó 6. Seis de los aislamientos no pudieron ser identificados (10).

CUADRO 3. DISTRIBUCION MUNDIAL DE LOS SEROTIPOS DE

Actinobacillus pleuropneumoniae

PAIS	SEROTIPO
Alemania	2, 3, 4, 5, 9
Argentina	1a
Australia	1a, 7a
Bélgica	1, 3, 5a, 7, 9
Brasil	1, 2, 4, 5a
Canadá	1a, 2, 3, 4, 5a, 6, 7
Corea	2, 3, 4, 5
Dinamarca	1, 2a, 3, 4, 6, 8, 9, 11, 12
E.U.A.	1a, 3, 4, 5a, 7
Finlandia	2, 5
Francia	3, 7a, 9
Reino Unido	2, 3a, 5, 6, 7, 8, 9
Holanda	1, 2, 3, 4, 5a, 6, 7, 8, 9
Irlanda	8
Italia	1, 2a, 3, 4
Japón	2a, 3, 5
México	1a, 2, 3b, 4c, 5a, 6b, 7c, 8b
Rumania	5
Suecia	2a, 3, 4, 8
Suiza	2a, 3, 7, 9
Taiwán	5
Venezuela	7
Yugoslavia	2a, 4

*Información solo en estos países

- a) Serotipos predominantes
- b) Reacción cruzada entre 3, 6 y 8
- c) Reacción cruzada entre 4 y 7.

FUENTE: Ciprián y col. (1992)

CUADRO 4. DISTRIBUCION NACIONAL DE LOS SEROTIPOS
DE Actinobacillus pleuropneumoniae.

ESTADO	SEROTIPO
Edo. México	1a, 5
Guanajuato	1a, 4, 5
Jalisco	1a, 2, 3, 5, 8
Michoacán	1a, 5, 6, 7
Puebla	1a, 2, 3, 4, 5
Querétaro	1a
Sonora	1a
Yucatán	5

* Información solo en estos estados

a) Serotipo predominante

FUENTE: Díaz y cols. 1992.

1.5 ESPECIES SUSCEPTIBLES

El cerdo es la única especie que en forma natural es susceptible a A. pleuropneumoniae presentándose en forma aguda, sobreaguda o crónica, pudiendo presentar una morbilidad de hasta un 100% y una mortalidad variable que va desde 20% hasta un 80%. La mortalidad más importante es en los cerdos de 4 semanas de edad pero las pérdidas por muerte se pueden dar hasta en cerdos de 12 a 16 semanas de edad (8,16,35,56). En muchos casos, cuando está ocurriendo la pérdida por muerte en animales de mayor peso, los cerdos fueron infectados a una edad mas temprana y están reciclando con la enfermedad clínica (8). El modo de transmisión es por aerosoles, aunque es posible que el personal de la granja infecte a los cerdos de manera indirecta por medio de la ropa, botas e instrumental contaminado, el hacinamiento y la mala ventilación pueden facilitar la propagación (1,11,12,16,35,43).

El estrés parece estar íntimamente relacionado cuando ocurre un brote de A. pleuropneumoniae, algunos de los factores de estrés más comunes que pueden hacer que ocurra ésta enfermedad son: cambios repentinos en la temperatura, alta humedad relativa, cambios en la alimentación, hacinamiento y movilización de los cerdos. Cuando ocurren cambios de temperatura mayores de 12 a 24°C, particularmente del día a la noche, puede haber un efecto dramático en

los cerdos infectados con A. pleuropneumoniae. La deshidratación y el estrés pueden de la misma manera hacer surgir un brote clínico de esta enfermedad (17).

El período de incubación de esta enfermedad dependerá de la cantidad de bacterias infectantes y de la patogenicidad, en forma experimental este puede tardar menos de 6 horas (16,21,49), pero en forma natural varía de 12 a 24 horas hasta varias semanas, dependiendo del estado inmune de los animales (19).

1.6 PATOGENIA.

Por lo que a la patogenia respecta la alta especificidad de especie que presenta esta bacteria, en contra del cerdo, al parecer es ocasionada porque en su epitelio de la mucosa respiratoria, el cerdo posee receptores para los pilis citoadherentes. La bacteria se adhiere entonces a la mucosa y no puede ser removida. Al parecer la cápsula de esta bacteria no tiene actividad tóxica o actividad pirógena pero sí tiene una actividad blastogénica linfocitaria, así mismo hay resistencia a la fagocitosis por parte de los neutrófilos además de que interfiere con la actividad del complemento a la membrana. El lipopolisacárido de la membrana externa de los diferentes serotipos inducen a la infiltración de

células inflamatorias, además de actuar como agente pirógeno, una vez establecida la bacteria en el pulmón la bacteria excreta sus exotoxinas. La actividad hemolítica de las hemolisinas 1 o 2 parecen ser las responsables de las lesiones iniciales caracterizadas por hemorragias y necrosis y al parecer también provoca un efecto tóxico sobre macrófagos, monocitos circulantes y polimorfonucleares (1,9,36,45,47,50,56).

1.7 SIGNOS CLINICOS

Los signos clínicos de la enfermedad dependen de varios factores: resistencia de los animales, su edad, condiciones ambientales adversas, grado de exposición y virulencia de la cepa, infecciones secundarias (12,16).

En las pjaras susceptibles A. pleuropneumoniae tiene un inicio repentino, diseminándose rápidamente y afectando a cerdos en todas las edades, incluso a los animales de cría. Los animales tienen típicamente una pérdida repentina de apetito, seguida por fiebre alta. En casos agudos, estos signos iniciales son seguidos por cianosis de la piel, disnea y una tos suprimida. El sufrimiento respiratorio puede ser tan severo que el cerdo respira a través de su hocico, abriéndolo de una manera que adopta una posición de perro sentado. Poco antes de la muerte, puede haber

una descarga de espuma sanguinolenta del hocico y de las fosas nasales. La muerte puede seguir en menos de 24 h. del inicio de los primeros signos. En el cuadro sobreagudo también llamado "neumonía hemorrágica" puede presentarse muerte súbita de algunos animales sin mostrar signo alguno, en los animales que no mueren inmediatamente, los signos que se pueden observar son: temperatura de 41 a 42°C se presenta cianosis de la piel, disnea tos húmeda, la afección respiratoria es muy severa, hay hemorragia y espuma por nariz y por la boca, la muerte se presenta antes de 24 h. Los cuadros agudos y crónicos se caracterizan por que uno le sigue al otro si los animales logran sobrevivir, al inicio presentan anorexia y cuando son forzados a moverse, muestran disnea, respiración abdominal, tos y también se presenta cianosis de la piel. Los cerdos que llegan a sobrevivir disminuyen su apetito y por consiguiente su desarrollo (1,8,11,14,16,19,43,46).

La lesión macroscópica característica de esta enfermedad es una neumonía fibrinohemorrágica, con apendices de fibrina adheridas desde la superficie pleural del pulmón hasta el recubrimiento de la cavidad torácica. Los pulmones presentan un color azul oscuro afectados extensamente por la neumonía. El desarrollo va de un pulmón hemorrágico edematoso con pequeñas cantidades de fibrina superpuesta en la

etapa aguda, hasta abscesos pulmonares y adherencia de los pulmones a la cavidad torácica (1,11,16, 36,40,43,48).

1.8 DIAGNOSTICO

El diagnóstico de esta enfermedad puede ser por: observación de los signos clínicos, historia de la piara, respuesta a la terapia y observación de las lesiones a la necropsia, el cual debe ser confirmado mediante un aislamiento y tipificación del microorganismo a partir de los pulmones de cerdos con el problema (17,36,44), o bien el diagnóstico serológico que se lleva a cabo en los cerdos vivos de las granjas, este último método es el más adecuado ya que se puede realizar en animales vivos aún con signos clínicos y no requiere del sacrificio del animal, es mas rápido y nos permite hacer perfiles de la enfermedad identificando el punto de infección en la granja.

1.8.1 DIAGNOSTICO CLINICO

El diagnóstico presuntivo de la enfermedad puede llevarse a cabo mediante la observación de los signos clínicos de la enfermedad así como la historia clínica del hato, entre los más importantes encontramos: pérdida repentina del apetito, seguida por fiebre alta, en casos agudos también se presenta cianosis de la piel, disnea y tos suprimida, los animales se ven obligados a respirar por el hocico adoptando la posición de perro sentado, poco antes de la muerte puede haber una descarga de espuma sanguinolenta por hocico y fosas nasales, la muerte puede ocurrir en menos de 24 h de haber iniciado los signos. El cuadro sobreagudo también llamado neumonía hemorrágica puede presentar muerte súbita de algunos animales sin presentar ninguna signología. En las pjaras susceptibles tiene un inicio repentino siendo su diseminación rápida y afectando a los cerdos de todas las edades (1, 8,11,12,16).

1.8.2 DIAGNOSTICO POR LESIONES PATOLOGICAS

Las lesiones producidas por este microorganismo están confinadas principalmente a la cavidad torácica y varían en relación a la severidad de la enfermedad, se pueden observar: focos de pleuroneumonía fibrinosa necrosante, congestión, hemorragia, edema, áreas de consolidación roja, inflamación de los ganglios regionales, de consistencia dura y edematoso, en tráquea y bronquios se puede encontrar exudado espumoso y sanguinolento, también se ha observado pericarditis fibrinosa y adherencia de epicardio, peritonitis y artritis, en ocasiones se han encontrado infartos en riñón, así como ascitis con hilos de fibrina en cavidad abdominal. El cambio histopatológico más relevante es una neumonía de tipo fibrinohemorrágica necrosante, también son observados trombos en arterias y alveolos, edema con fibrina, zonas de congestión y hemorragia. En casos crónicos se pueden observar granulomas caseosos rodeados por el septo interlobulillar con hipertrofia y proliferación de tejido linfoide, además de engrosamiento de los septos alveolares (1, 19, 35, 36, 42, 43, 48, 56).

1.8.3 DIAGNOSTICO BACTERIOLOGICO

El diagnostico confirmativo, se hace mediante el aislamiento y tipificación del microorganismo a partir de los pulmones de cerdos afectados (16.22,40,44)

1.8.4 DIAGNOSTICO SEROLOGICO

Para el diagnóstico serológico de la pleuroneumonía contagiosa porcina se dispone de las siguientes pruebas: aglutinación con partículas de látex, aglutinación en tubo con 2-mercaptoetanol, hemoaglutinación indirecta, Fijación de Complemento, inmunofluorescencia indirecta y prueba de inmunoabsorción ligada a las enzimas (ELISA) (2, 10,17,22,28,39).

La prueba de Fijación de Complemento (FC) es el ensayo estandar usado en los Estados Unidos y otros países para comprobar si los cerdos tienen anticuerpos de A. pleuropneumoniae, sin embargo, es una prueba demasiado complicada que ocupa muchos controles, además de que el suero no deberá estar hemolisado, por lo que el sangrado del cerdo debe ser adecuado, esto aunado a la actividad procomplementaria o anticomplementaria de algunos sueros porcinos, que interfieren con el uso de la prueba de FC en algunos animales. La mala relación entre el título de FC y la protección indica que el

ensayo no depende de la infección, y que no detecta un factor virulento importante (17,24). La vacunación puede inducir títulos positivos de FC (24), pero puede no proporcionar protección significativa, del mismo modo existen cerdos identificados como portadores nasales de la bacteria que no presentan títulos positivos de fijación de complemento (Kume y cols. 1984 citado por Fenwick 16). Del mismo modo, los cerdos identificados con cepas no serotificables no serían identificados como infectados de acuerdo con la prueba de Fijación de Complemento, ELISA con células completas o cualquiera de las pruebas que se basan en la identificación de anticuerpos a antígenos capsulares definidos previamente y/o antígenos LPS (lipopolisacaridos) (15).

Entre las otras pruebas serológicas que han sido desarrolladas para identificar cerdos portadores, así como para hacer la serotipificación correspondiente, se cuenta con: la prueba de ELISA con células completas o de fracción de membrana celular (4,16,17,28,39), aglutinación (33), hemoaglutinación indirecta (52,) coaglutinación (26,52), conteo inmunolectroforético (38,52), ELISA bloqueada (39), LPS-ELISA (15), ELISA capsular (15).

Gutiérrez y cols (25) produjeron varios preparados de antígenos (extracto salino, extracto capsular, suspensión de células completas, extracto calentado, etc.) y fueron usadas para el diagnóstico y tipificación de las cepas las pruebas de fijación de complemento, ELISA, hemoaglutinación indirecta, estableciendo que la menor reactividad cruzada se obtuvo con el extracto capsular con la prueba de Hemoaglutinación indirecta y por lo tanto concluyen que es el método mas confiable para serotipificar las cepas de Actinobacillus pleuropneumoniae.

Más recientemente se ha desarrollado un ensayo de neutralización de hemolisina y un análisis de Western blot, para el diagnóstico de A. pleuropneumoniae, dicho ensayo proporciona buenos resultados que se correlacionan bien con la prueba de selección debido a su sensibilidad, mientras que la prueba de Western blot se usa como prueba de confirmación, debido a que tiene tanto una alta sensibilidad como una alta especificidad (52)

1.8.5 SITUACION DEL DIAGNOSTICO EN MEXICO.

En los países como México, el diagnóstico de PCP se realiza por signos clínicos; por hallazgos a la necropsia y en ocasiones por aislamiento y tipificación del microorganismo, debido

principalmente a la falta de la costosa infraestructura que requieren los laboratorios equipados y los recursos humanos capacitados, por lo que el diagnóstico serológico casi no se lleva a cabo. Ante esta problemática un grupo de investigadores Mexicanos han desarrollado un kit de diagnóstico serológico de PCP empleando tecnología sencilla y de bajo costo, con lo que se podrá conocer la situación de la granja con respecto a la enfermedad (perfil serológico) y así establecer las medidas de control pertinentes. Este kit de diagnóstico fue denominado PLEUROTTEST (Marca registrada por la UNAM, patente en trámite).

1.8.6 PAQUETE TECNOLÓGICO DENOMINADO "PLEUROTTEST"

PLEUROTTEST es un equipo diseñado para detectar anticuerpos producidos por los cerdos enfermos o los cerdos portadores de PCP mediante un simple ensayo de aglutinación en placa que determina en unos minutos si un cerdo tiene anticuerpos contra A. pleuropneumoniae generados durante la infección, diferenciando aquellos anticuerpos del cerdo que han sido vacunados contra A. pleuropneumoniae, esta prueba se basa en el principio de aglutinación directa. El suero del cerdo a diagnosticar es mezclado apropiadamente con el reactivo que contiene células tratadas de A. pleuropneumoniae.

En el caso de un cerdo infectado con PCP, su suero contiene anticuerpos específicos que reaccionan con los antígenos presentes en el reactivo produciendo una aglutinación caracterizada por la aparición de grumos en la mezcla, indicando un resultado positivo. Si se trata de un cerdo sano, el suero normalmente no contiene anticuerpos contra este microorganismo, o si se trata de un cerdo vacunado contra PCP, el suero contiene anticuerpos vacunales, que no reaccionan con el reactivo, de tal forma que en ambos casos la aglutinación no se produce y no se observan grumos, indicando un resultado negativo.

La prueba con PLEUROTTEST se efectúa en un máximo de 10 minutos. La prueba puede ser realizada por personal no calificado mediante los siguientes pasos:

- 1) El frasco con el reactivo se deja equilibrar a la temperatura ambiente, durante 10-15 minutos.
- 2) Utilizando la pipeta se coloca una gota del suero problema en una de las celdas de la placa.
- 3) Se coloca una gota de reactivo de aglutinación en la celda que contiene la gota de suero y se mezclan con movimientos rotatorios utilizando un palillo mezclador.

4) Se agita la placa suavemente con movimiento ondulatorio durante 4 minutos.

5) Se efectúa la lectura, la cual se recomienda llevar a cabo dentro de los 2 minutos posteriores de terminada la prueba.

Los sueros de cerdos infectados con Actinobacillus pleuropneumoniae de campo, mostrarán fuerte aglutinación, mientras que los sueros de los cerdos sanos y los vacunados contra la

Pleuroneumonía Contagiosa Porcina permanecerán sin grumos.

El PLEUROTTEST fue concebido como una prueba para detectar animales enfermos o portadores de Pleuroneumonía Contagiosa Porcina directamente en la granja, no da falsos reactores negativos, y los reactores positivos pueden ser reevaluados mediante otras pruebas serológicas. Los resultados obtenidos por esta prueba ayudarán al Médico Veterinario de la granja a tomar las medidas adecuadas para el control y la erradicación de la pleuroneumonía contagiosa porcina.

1.9 PROGRAMAS DE VACUNACION.

Para prevenir la PCP se han desarrollado varias vacunas con resultados variables tanto en condiciones experimental como de campo.

La protección conferida por las vacunas depende de la calidad de las mismas y de los programas de inmunización. En general las vacunas con extracto capsular completo resultan más eficaces que las que contienen solo algunas fracciones (Raap y Ross, 1986 citado por Ciprián y cols. 1992) (8).

Fedorcka, en 1990 (14), comparo la eficacia de un preparado a base de productos de secreción donde la fracción predominante fue la hemolisina (una proteína de 110 kilodalton) y bacterinas comerciales, los cerditos que recibieron un preparado a base de productos de secreción redujeron significativamente la mortalidad y el % de pulmones afectados después del desafío con *A. pleuropneumoniae* serotipo 1, lo que denota que hace falta mayor investigación sobre este tema.

La vacunación para infecciones causadas por *A. pleuropneumoniae*, con un buen inmunógeno tendría que tener el serotipo identificado en la granja, que tuviera los factores de adherencia, que tuviera las toxinas inactivadas entre otras cosas, para ser efectiva y controlar los brotes agudos y así como para reducir las lesiones en los animales infectados (comunicación personal Dr. Ciprian 1993). Es importante determinar el serotipo o los serotipos involucrados en la unidad problema (17,29,32,34,38,54). Los tiempos óptimos son a las

6-8 semanas de edad para la primera dosis (cuando los niveles de anticuerpos maternos estan al mínimo y aún no ha ocurrido la exposición), con una segunda dosis de refuerzo a las 8-10 semanas de edad. La inyección intraperitoneal para la primera dosis, y la inyección intramuscular ha comprobado ser efectiva en ranchos con problemas severos. Se cree que la inyección intraperitoneal estimula la inmunidad mediada por células y la inyección intramuscular, estimula a la inmunidad humoral (19).

1.10 TRATAMIENTO Y CONTROL.

Los problemas ambientales y de manejo tienen que evaluarse para resolver el problema de la PCP. La temperatura del aire es uno de los factores mas críticos que tiene que tomarse en cuenta debiendo minimizarse las fluctuaciones de temperatura, evitar el exceso de humedad, asegurarse que haya suficiente agua disponible, y verificar que la densidad animal sea la adecuada (16).

Los procedimientos de tratamiento empleados para controlar los brotes clínicos de Pleuroneumonía Contagiosa Porcina dependen generalmente de la severidad del síndrome. Es importante hacer aislamientos a partir de pulmón afectado y luego, realizar pruebas de sensibilidad

a los antibióticos, para determinar el mejor a utilizarse. Los brotes severos requieren generalmente un tratamiento masivo de los cerdos afectados. Comúnmente se usa penicilina, ampicilina y trimetropim. También se recomienda una revacunación el primer día del tratamiento (16,19). Sin embargo varios autores han observado marcada resistencia de la bacteria a los antibióticos como ampicilina, colistina, gentamicina, kanamicina, novobiocina, penicilina, polimixina-B y sulfametoxazol-trimetropim (8, 13,43,).

Smith y cols.1991 (53) reportan que el enrofloxacin en dosis de 150 mg/Kg produjo un marcado control de la infección, redujo la severidad de las lesiones torácicas así como la prevalencia de las bacterias en los pulmones. Recientemente se ha usado Tiamulin en el agua de bebida durante los primeros 5-7 días del brote, con cierto éxito aparente (19), también se ha usado clortetraciclina 400gm/tonelada de alimento, los veterinarios de las granjas creen que la medicación en el alimento ayuda a reducir las poblaciones bacterianas de Pasteurella multocida en brotes de Pleuroneumonía Contagiosa Porcina (19)

1.11 JUSTIFICACION.

Una medida importante en el control de la pleuroneumonía contagiosa porcina, es la localización de los cerdos infectados (denominado punto de infección), el momento en el cual los animales adquieren la enfermedad más frecuentemente, para que de esta manera se puedan implementar las medidas adecuadas de profilaxis y tratamiento en las diversas etapas de producción, en vista del costo de las pruebas serológicas de diagnóstico para esta enfermedad, es necesario realizar la validación de las innovaciones tecnológicas que están siendo desarrolladas como es el caso del PLEUROTTEST, que por ser barata y fácil de llevar a cabo, su aplicación en nuestro país es accesible.

2.0 OBJETIVO GENERAL.

Se ensayo el paquete tecnológico denominado PLEUROTTEST. Para determinar y localizar el punto de infección con los diferentes serotipos de A. pleuropneumoniae presentes en la granja.

2.1 OBJETIVOS PARTICULARES:

1) Se determinó el punto de infección de A. pleuropneumoniae mediante el ensayo serológico PLEUROTTEST en una granja de ciclo completo.

2) Se definió el perfil serológico de la granja, para conocer los diferentes serotipos de A. pleuropneumoniae presentes en cada una de las etapas de la granja.

3) Se estableció un programa de vacunación y tratamiento a los animales con los resultados obtenidos.

3.0 MATERIAL Y METODOS:

3.1 Lugar de trabajo:

El trabajo experimental se realizó en una granja porcina comercial de ciclo completo, localizada en el municipio de Teoloyucan Estado de México.

3.2 Animales

La granja cuenta con 180 vientres de las razas York-shire y Hampshire, con problemas de pleuroneumonía contagiosa, antes del primer muestreo la mortalidad por pleuroneumonía contagiosa porcina era del 35%

3.3 Muestreo

Se realizaron tres muestreos estratificados con intervalos de 4 meses cada uno y cada muestreo fue de la siguiente manera: 50 sueros de la etapa de destete (I); 50 sueros de la etapa de crecimiento (II); 50 sueros de la etapa de

desarrollo (III); 50 sueros de la etapa de finalización (IV).

3.4 PLEUROTTEST

Todos los sueros colectados fueron probados con el ensayo de PLEUROTTEST empleando antígeno de Actinobacillus pleuropneumoniae serotipos 1, 2, 3, 5, 7 y 9 (los más comunes en México).

3.5 Aislamiento bacteriológico

Se tomaron 20 pulmones con PCP en el lapso de 8 meses previos y se les realizaron el aislamiento e identificación del A. pleuropneumoniae así como su serotipificación (Ciprián y col 1988)

3.6 Preparación de la autobacterina

Con los serotipos identificados se prepararon cultivos de 18 h en un fermentador de 10 litros en el Laboratorio de Virología de Posgrado en Microbiología de la Facultad, los serotipos trabajados fueron los 1,3, 5 y 7 con los que se preparó la bacterina con la cual fueron vacunados los cerdos que así lo requerían. La autobacterina se elaboró de la manera siguiente:

a) El medio de cultivo que se utilizó fue BHI (Infusión cerebro corazón), en una relación de 450g en 10 l. de agua destilada.

b) El medio de cultivo se esterilizó en autoclave a 121°C durante 15 minutos y se incubó a 37 ° C para determinar la prueba de esterilidad.

c) Al medio de cultivo se le adicionó el 10 % de extracto de levadura el cual fue preparado de acuerdo a Carter 1975 y Boughton 1976 (5,6).

d) Los 10 l. de medio de cultivo con el extracto de levadura fueron inoculados con un litro de inóculo bacteriano de *A. pleuropneumoniae* previamente aislada e identificada de 6 h de incubación.

e) Adyuvante hidróxido de aluminio en la proporción 1:1 vol:vol de suspensión de *A. pleuropneumoniae* con 10⁸ bacterias/ml y los sobrenadantes se mezclaron con el adyuvante.

f) Prueba de inocuidad en ratones. Se inocularon 0.2 ml de bacterina por vía intramuscular a 10 ratones.

3.7 Medidas preventivas

3.7.1 Vacunación con la autobacterina

Se aplicaron 2 ml por vía intramuscular a cerdos sanos.

3.7.2 Administración terapéutica y preventiva

Con el objeto de prevenir la presentación de los signos clínicos se administraron antibióticos del grupo de los macrólidos en forma de premezcla en el alimento.

4.0 RESULTADOS

Debido a que la granja es de ciclo completo, y presenta una población heterogénea, se agrupó en 4 diferentes etapas productivas, cada una de ellas con características definidas, se estableció realizar un muestreo estratificado, el cual en este caso, proporciona un muestreo más fidedigno de lo que estaba sucediendo en la granja en cada una de las etapas productivas, que un muestreo completamente al azar. De esta manera se colectaron un total de 600 sueros en tres periodos.

El estudio bacteriológico de los 20 pulmones, reveló que en el 95% de ellos se aisló *A. pleuropneumoniae* invariablemente. La tipificación mostro que 11 cepas fueron del serotipo 1; 7 cepas del serotipo 3; 4 cepas del serotipo 5 y 3 del serotipo 7. Solo en 5 pulmones se encontraron infecciones mixtas, encontrandose 1 o 2 serotipos en el mismo pulmón.

Se elaboraron tres lotes de autobacterinas preparadas con los serotipos siguientes: el primer lote con los serotipos 1, 3, 5 y 7 y los lotes 2 y 3 con los serotipos 1 y 3, aplicandoseles a las mismas la prueba de inocuidad anteriormente descrita.

El primer muestreo serológico reveló que en la etapa I, el serotipo 7 (24%) prevaleció sobre los otros, sin embargo, fue decreciendo hasta la etapa IV. En la etapa II, el serotipo que prevaleció fue el 3 (56%) y se mantuvo en las siguientes etapas; además los serotipos 1 y 9 en las etapas I y IV se comportaron en forma similar (4 y 44% para el serotipo 1 y 4 y 42% para el 9 respectivamente).

En la etapa III, los serotipos predominantes fueron: 1 (32%); 3 (24%) y 5 (20%);. En la etapa IV, nuevamente aumentaron los serotipos 1 (44%); 3 (50%) y 9 (42%) y decrecieron los serotipos 5 (14%) y 7 (2%). El serotipo 2 no fue identificado en esta granja (Cuadro 5).

En las etapas II y IV se localizaron los principales puntos de infección de *Actinobacillus pleuropneumoniae* (Figura 1), se aplicaron solo medidas preventivas de profilaxis con la autobacterina conteniendo los serotipos 1, 3, 5, y 7; en estas etapas y se redujo la mortalidad al 9.5%

En el segundo muestreo estratificado se encontró que en la etapa I el serotipo 5 (18%) prevaleció sobre los otros, sin embargo, fue decreciendo hasta la etapa IV, el serotipo 7 solo prevaleció en esta etapa, pero en bajo porcentaje; los serotipos 1 y 9 en todas las etapas se

comportaron en forma similar (11, 8, 11 y 11 %) para el serotipo 1; 12, 7, 10 y 11 % para el serotipo 9. En la etapa III, el serotipo predominante fue el 3 (8%); en la etapa IV, los resultados fueron similares a los de la etapa III (Figura 2),. Se aplicaron las medidas de medicación en la lactancia y destete medicado temprano y medidas de profilaxis en las etapas I y II (vacunación).

No se continuarón las medidas establecidas, debido a la problemática económica de la granja, y nuevamente la mortalidad por Pleuroneumonía Contagiosa Porcina aumento al 13.3%. Lo que fue revelado con el tercer muestreo estratificado, ya que se encontró que en la etapa I los serotipos 1 y 9 (9 y 7 % respectivamente) aunque disminuyeron en porcentaje, estos prevalecieron sobre los otros. El serotipo 7 solo prevaleció en la etapa I, y disminuyo en las siguientes. En la etapa II, aumentaron drásticamente los serotipos 1 y 9 (33 y 32 % respectivamente), y aparece el serotipo 5 (14%). En la etapa III, bajan nuevamente los serotipos 1 y 9 (8 y 10 %) respectivamente pero aumenta el 5 (18%), finalmente en la etapa IV todos los serotipos disminuyen a menos del 10% (Ver Cuadro 7 y Gráfica 3).

CUADRO 5 RESULTADOS DEL PRIMER MUESTREO SEROLOGICO
EN LAS CUATRO ETAPAS DE PRODUCCION

ETAPA	PREVALENCIA POR SEROTIPO					
	1	2	3	5	7	9
I	4%	---	---	---	24%	4%
II	---	---	56%	---	---	---
III	32%	---	24%	20%	---	---
IV	44%	---	50%	14%	2%	42%

CUADRO 6 RESULTADOS DE SEGUNDO MUESTREO SEROLOGICO

ETAPA	PREVALENCIA POR SEROTIPO					
	1	2	3	5	7	9
I	11%	---	---	18%	---	12%
II	8%	---	---	---	---	7%
III	11%	---	8%	---	---	10%
IV	11%	---	---	---	---	11%

CUADRO 7 RESULTADOS DEL TERCER MUESTREO SEROLOGICO

ETAPAS	PREVALENCIA POR SEROTIPO					
	1	2	3	5	7	9
I	9%	---	---	---	---	7%
II	33%	---	---	14%	---	32%
III	8%	---	---	18%	---	10%
IV	< 10%	---	---	<10%	---	<10%

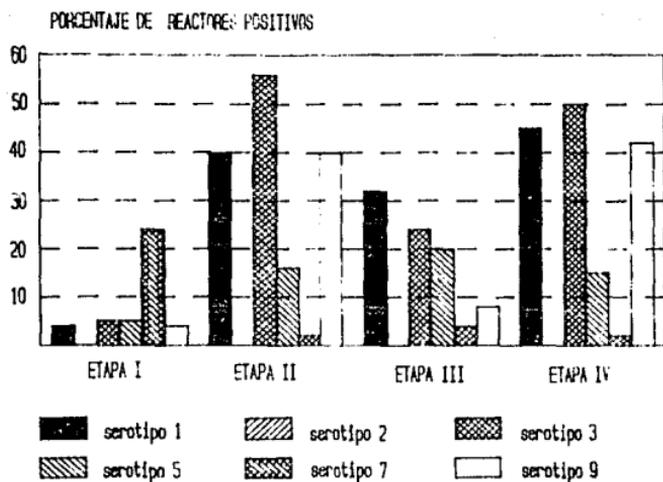


Figura 1. Serologia del primer muestreo.

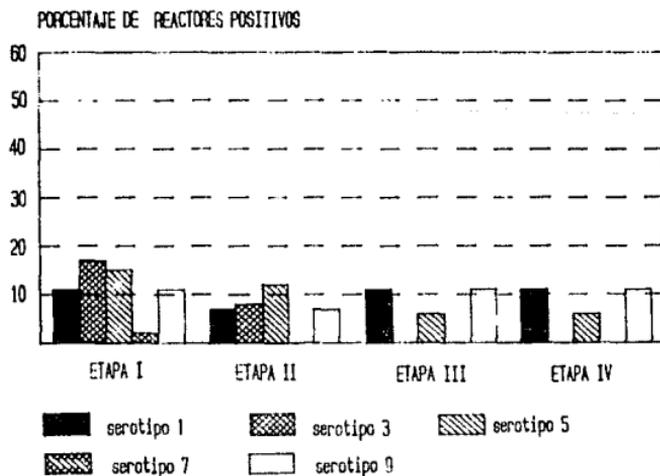


Figura 2. Serologia del segundo muestreo.

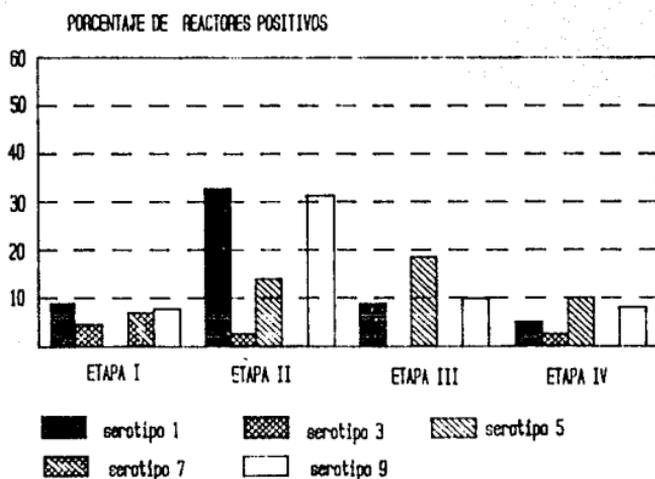


Figura 3. Serología del tercer muestreo.

5.0 DISCUSION

De acuerdo a los reportes en la literatura, para que la enfermedad se presente, aparte de la presencia de la bacteria en la granja, es necesario que ocurra algun factor estresante en la granja, en este sentido, en la granja, no se contrarestaban adecuadamente los cambios de temperatura, no existia control en el acceso a la granja, asi mismo la granja carecia de tapete sanitario y adecuados programas de vacunaci3n, raz3n por la cual la presencia de la enfermedad se vio favorecida.

Mediante la serologia del primer muestreo, se llevo a cabo la identificaci3n de los serotipos presentes en la granja lo cual fue de vital importancia ya que esto permiti3 preparar las autobacterinas con los serotipos especificos que afectaban a esa piara. Tambi3n se localiz3 el punto de infecci3n, lo que permiti3 se implementaran medidas para corregir el manejo (se atenuaron los cambios de temperatura mediante el uso de cortinas, se tuvo un mejor control en el acceso a la granja, etc.) y se aplicaron las medidas preventivas de inmunizaci3n y medicaci3n requeridas

Con el segundo muestreo se comprobó que las medidas preventivas y de tratamiento fueron adecuadas, comprobando de esta manera que las autobacterinas elaboradas fueron eficaces, ya que la prevalencia de la enfermedad se redujo notablemente además de que los títulos detectados se redujeron notablemente, demostrando una de las principales ventajas del PLEUROTEST, ya que al no detectar anticuerpos vacunales, permitió observar la eficacia de las medidas de control adoptadas.

El tercer muestreo reveló que la enfermedad apareció nuevamente, esto fue debido probablemente al descuido en manejo de la granja producto de problemas económicos de los propietarios.

Por otro lado en relación a la prevalencia de los serotipos en la granja encontramos que durante el primer muestreo los serotipos 1, 3, 5, 7 y 9 fueron detectados, el serotipo 1 ha sido detectado en los estados de Guanajuato, México, Jalisco, Michoacán, Puebla Querétaro y Sonora, el serotipo 3 había sido reportado únicamente en los estados de Jalisco y Puebla; en tanto que el serotipo 5 se ha reportado en los estados de Guanajuato, Jalisco, México, Michoacán, Puebla y Yucatán; el serotipo 7 solo había sido reportado en el estado de Michoacán y el serotipo 9 no había sido reportado en el País,

la presencia de todos estos serotipos nos lleva a pensar que hay una gran diseminación de los diferentes serotipos en el País debido quizá a las importaciones de vientres para pie de cria; por parte de los porcicultores y de las compañías extranjeras radicadas en México. Con respecto al serotipo 9 que no había sido detectado en ningún estado de la República, es importante mencionar que existen reacciones cruzadas entre el serotipo 1 y el serotipo 9 debido a su antígeno somático (O1), razón probable por la que no había sido reportado (25, 34).

En el segundo muestreo observamos que en general la prevalencia de todos los serotipos disminuye incluso el serotipo 7 ya no es detectado, esto fue tal vez consecuencia directa de las medidas preventivas y de tratamiento implantadas después del primer muestreo.

En el tercer muestreo, se observó un incremento en todos los serotipos, excepto el serotipo 7 que no es detectado, esto quizá resultado de la suspensión de las medidas preventivas y de tratamiento que habían sido implementadas.

El PLEUROTTEST resultó ser un método eficaz de diagnóstico, que además permitió diferenciar los anticuerpos vacunales de los anticuerpos producidos como respuesta a una infección, lo que representa una gran ventaja con respecto a las otras pruebas serológicas como F.C., ELISA, H.A. (2,17,23,25,26, 33); Así mismo el PLEUROTTEST demostró ser un método de diagnóstico valioso, auxiliar en el control de la enfermedad ya que, como demuestran los resultados de los dos primeros muestreos, que con el primer muestreo identificamos que las etapas de destete y crecimiento son las más críticas con respecto a la presentación de la enfermedad coincidiendo con los reportes de la literatura (16).

Del mismo modo, el PLEUROTTEST nos ayudó a reconocer los serotipos más comunes primero en la granja, y después en cada una de las etapas productivas en las que se divide la misma, lo que podría conducir, a la elaboración de una autobacterina específica para cada etapa.

6.0 CONCLUSIONES.

El PLEUROTTEST resultó eficiente en la determinación del punto de infección de A. pleuropneumoniae, así como para elaborar el perfil serológico de la granja, pudiendo identificar mediante su uso los serotipos específicos presentes en la misma. Permitiendo implementar las medidas de prevención y/o control apropiadas para la granja, constituyendo así una herramienta valiosa en el control y erradicación de la enfermedad.

Sin embargo si estas medidas no son aplicadas correctamente, o si al paso del tiempo estas son olvidadas, la enfermedad podría surgir nuevamente.

7.0 BIBLIOGRAFIA

1.- Anthony J.D. and Lewis, E.F.: Enfermedades del cerdo. Traducción de la quinta edición en Ingles por Quezada B. G. Compañía Editorial Continental S. A. México. p 190-199

(1981)

2.- Beskow, P. y Soderlind, O.: Serodiagnóstico de Haemophilus pleuropneumoniae como base para las medidas de prevención. Avances en enfermedades del cerdo. Ediciones de la Asociación Mexicana de Veterinarios Especialistas en Cerdos. México, 465-470

(1985).

3.- Borr, J.D., Ryan, D. A.; Mac Innes, J.I.: Analysis of Actinobacillus pleuropneumoniae and related organism by DNA-DNA hybridization and restriction endonuclease fingerprinting. International Journal of Systematic Bacteriology 41.

1: 121-129 (1991).

4.- Bossé, J. T., Johanson, R.P. and Rosendal, S.: Serodiagnosis of pleuropneumonia using enzyme linked immunosorbent assay with capsular polisaccharide antigens of Actinobacillus pleuropneumoniae serotypes 1, 2, 5 y 7. Canadian Journal of Veterinary Research 5A. 4:427-431 (1990).

- 5.- Boughton, E. and Thorns, C.: Mycoplasma laboratory Hand book. Ministry of Agriculture, Fisheries and Food. Central Veterinary Laboratory. New Haw, Weybridge, Surrey, England (1976).
- 6.- Carter, G.R.: Diagnostic procedures in Veterinary Microbiology. Second edition. Charles C. Thomas Publisher. Springfield Illinois, USA. (1975).
- 7.- Chang, Y. F., Young, R. and Struck, D. K.: The Actinobacillus pleuropneumoniae hemolysin determinanti unlinked appCA y appBD loci flanked by pseudogenes. Journal of Bacteriology. 171. 16: 5151-5158 (1991).
- 8.- Ciprian C. A., Colmenares, V. G. y Mendoza E.S.: La enfermedad en México. Actinobacillus pleuropneumoniae. Avances Prod. Porcina. 1 : 125-142 (1992).
- 9.- Ciprian, C. A., Medina, A.G., Fuentes, R.M., Pijoan, A.C., Torres, A. O., Colmenares, V. G. y Camacho, M.J: Serotipificación de Haemophilus pleuropneumoniae aislado de cerdos en México. Vet. Mex. 19: 205-210 (1988)
- 10.- Díaz, C., González, M., Jiménez, E. y Stephano, A: Actinobacillus (Haemophilus) pleuropneumoniae aislados en México de cerdos con Pleuroneumonía de 1985 a 1988. Vet. Mex. 20: 157-160 (1984)

- 11.- Diddier, P. J., Perino, B. S. L. and Urbance, J.B. S.: Porcine Haemophilus pleuropneumoniae: Microbiologic and pathologic findings. J. Am. Vet. Med. Assoc. 184: 716-719 (1984).
- 12.- Dune, H. W.: Diseases of swine. Fourth edition. The Iowa State University Press, Iowa U.S.A. 142-158 (1975).
- 13.- Fales, W. H., Morehouse, L.G., Mittal, K. R., Bean-Knudsen, C., Nelson, S. L., Kintner, L.D., Turk, J. R., Turk, M. A., Brown, T. P. and Swaw, D. P.: Antimicrobial susceptibility and serotypes of Actinobacillus (Haemophilus) pleuropneumoniae recovered from Missouri swine. Journal of Veterinary Diagnostic Investigation 1. 1: 16-19 (1989).
- 14.- Fedorka-Cray, P. J.: Actinobacillus (Haemophilus) pleuropneumoniae virulence factors: partial characterization and efficacy studies in swine. Dissertation Abstracts International 50. 12: 5501-B. (1990).
- 15.- Fenwinck B..W. and Osburn B. I.: Immune responses to the lipopolysaccharides and capsular polysaccharides of Haemophilus pleuropneumoniae in convalescent and immunized pigs. Infect. Immun. 53: 575-582 (1986).

- 16.- Fenwinck B. W., Smeltzer S.M., Vinker K.: Procc 70th Conference of Research Workers in Animal Diseases, Chicago, 1989.
- 17.- Fenwick B. W.: Diagnostico de pleuroneumonía porcina en el laboratorio. Avances Prod. Porcina 1: 116-123 (1992).
- 18.- Folly, M., Kolly, C. and Martinod S. R.: Coagulation induced by challenge with various doses of Actinobacillus pleuropneumoniae in pigles. Veterinary Record 128. 8: 186-187 (1991).
- 19.- Freese. W.: Síndrome clínico y procedimientos de tratamiento para Actinobacillus (Haemophilus) pleuropneumoniae. Avances Prod. Porcina, 1: 108-115 (1992).
- 20.- Frey. J. and Nicolet, J.: Immunological properties of Actinobacillus pleuropneumoniae hemolysin I. Veterinary Microbiology 28. 1 : 61-73 (1991).
- 21.- Frise W.: Compendio sobre Actinobacillus. Asociación Mexicana de Médicos Veterinarios Especialistas en Cerdos. México. 9-15 (1990).
- 22.- Gallardo L. A., Polanco J., Pineda, M. y Méndez A. F.: Diagnóstico bacteriológico de las neumonías en cerdo. Revista de la Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Central de Venezuela, 34. 1: 101-113 (1987).

- 23.- Gunnarson, A., Biberstein E. L. and Huruell B.: Serologic studies on porcine strains of Haemophilus parahemolyticus (pleuropneumoniae) agglutination reactions. Am. J. Vet. Res. 38.: 1111-1114 (1977).
- 24.- Gunnarson, A.: Evaluation of different antigens in the complement-fixation test for diagnosis of Haemophilus pleuropneumoniae (parahemolyticus) Infections in Swine. Am. J. Vet. Res. 40: 1564-1567 (1979).
- 25.- Gutierrez, C. B., Tascon, R. I., Velazquez J. a. and Ferri E. F.: Cross-reactivity between Actinobacillus pleuropneumoniae serotypes. comparing different antigens and serological test. Research in Veterinary Science 50. 3: 308-310 (1991).
- 26.- Hoffman, L.J.: Actinobacillus (Haemophilus) pleuropneumoniae: uso de la coagglutination and complement fixation to determine the relationship between presence of organism and antibody titer in slaughterhouse pigs. Journal of Veterinary Diagnostic Investigation 1. 1: 12-15 (1989).
- 27.- Huether, M. J., Fedorka-Cray, P.J., Pfannenstiel, M. A. and Anderson G. A.: Haemophilus pleuropneumoniae plasmid profiles and hemolytic activity. Journal of Veterinary Diagnostic Investigation 1. 1: 88 (1989).

- 28.- Hurvell, J., Soderlind, O., Gunnarsson, A. y Anneback, M.: El uso de la prueba de ELISA para el muestreo serológico de las infecciones de Haemophilus pleuropneumoniae en cerdos. Avances en enfermedades del cerdo. Ediciones de la Asociación Mexicana de Veterinarios Especialistas en Cerdos. México, 471-473 (1985).
- 29.- Inzana, T.J.: Serotype specificity and immunogenicity of capsular polymer of Haemophilus pleuropneumoniae serotype 5. Infect. Immun. 51: 1580-1587 (1987).
- 30.- Inzana, T. J., Todd, J., Ma, J. and Veit, H.: Characterization of non hemolytic mutant of Actinobacillus pleuropneumoniae serotype 5: Role of the 110 kilodalton hemolysin in virulence and immunoprotection. Microbial pathogenesis. 10. 4: 281-296 (1991).
- 31.- Jaques, M., Belanger, M., Roy, G. and Foiry, B.: Adherence of Actinobacillus pleuropneumoniae to porcine tracheal epithelial cell and frozen lung sections. Veterinary microbiology 27. 2: 133-143 (1991).
- 32.- Lugo, R. C., Torres, A. O., Mendoza, E. S., Tortora, P. J. y Ciprián, C. A.: Presencia de Actinobacillus pleuropneumoniae Biovariedad 2 de casos de PCP aguda. Memorias de la Reunión Nacional de Investigación Pecuaria. SARH, UNAM. 1989.

- 33.- Mittal, K.R., Higgins, S. and Larievere, C.: Evaluation of slide agglutination and ring precipitation test for capsular serotyping of Haemophilus pleuropneumoniae. J. Clin. Microbiol. 15: 1019-1023 (1982).
- 34.- Mittal, K. R. and Bourdon, S.: Cross-Reactivity and antigenic heterogeneity among Actinobacillus pleuropneumoniae strains of serotypes 4 and 7. Journal of clinical Microbiology 29, 7: 1334-1347 (1991).
- 35.- Nielsen, R. : Haemophilus parahaemolyticus as the cause of pleuropneumonia in swine I. Clinical, pathological and epidemiological studies. Nord. Vet. Med. 22: 240-245 (1970).
- 36.- Nielsen, R. : Haemophilus parahaemolyticus as the cause of pleuropneumonia in swine. II. Studies on the identity and pathogenicity of the organism isolated. Nor. Vet. Med. 22: 246-255 (1970).
- 37.- Nielsen, R.: Pleuropneumonia of swine caused by Haemophilus parahaemolyticus. Studies on the protection obtained by vaccination. Nor. Vet. Med. 28: 337-338 (1976).
- 38.- Nielsen, R. and O'Conor, P. J.; Serological characterization of 8 Haemophilus pleuropneumoniae strains a proposal of a new serotype 8. Acta Scand 25: 96-106 (1984).

- 39.- Nielsen, R., Plambeck, T. and Foged, N.T.: Blocking enzymelinked immunosorbent assay for detection of antibodies to Actinobacillus pleuropneumoniae serotype 2. Journal of Clinical Microbiology 29, 4: 794-797 (1991).
- 40.- Pattison I. H., Howell, D. G. and Elliot, J.: A Haemophilus-like organism isolated from pig lung and the associated pneumonic lesions. J. Comp. Pathol. 67:320-329 (1957).
- 41.- Pijoan, C., Ochoa, G., Méndez, D., Lastra, A.: Aislamiento de Haemophilus parahaemolyticus de cerdos con neumonía. Tec. Pec. Mex., 34: 85-87 (1978)
- 42.- Pohl, S., Berstchingen, U., Frederiksen, W. and Mannheim, W.: Transfer of Haemophilus pleuropneumoniae and the Pasteurella haemolytica-like organism causing porcine necrotic pleuropneumonia to the genus Actinobacillus (A. pleuropneumoniae) on basis of phenotypic and desoxyribonucleic acid relatedness. J. Syst. Taxon. 33: 510 (1983)
- 43.- Phillops, D.: Haemophilus pleuropneumoniae. Pork Disease Control Guide 217: 27 - 29 (1986)
- 44.- Pijoan, C., Morrison, R. B. and Hilley, H.D.: Dilution technique for isolation of Haemophilus from swine lungs collected at slaughter. J. Clin. Microbiol 18: 143-145 (1983).

- 45.- Ramírez, N.R.: Neumonía hemorrágica del cerdo, neumonía por Haemophilus parahaemolyticus, En: Haemophilus Frontera de Investigación Universidad Autónoma Metropolitana (Xochimilco). México, p. 34 (1981).
- 46.- Rosendal, S and Boyd, D.A.: Haemophilus pleuropneumoniae. J. Clin. Microbiol. 16.: 840-843 (1982).
- 47.- Rycroft. A. N., Williams, D., Cullen, J.M. and Mac-Donald, J.: The cytotoxin of Actinobacillus pleuropneumoniae (pleurotoxin) is distinct from the hemolysin and is associated with a 120 kDa polypeptide. Journal of General Microbiology 137. 3: 561-568 (1991).
- 48.- Sebunya T.H.K. and Saunders J. R.: Haemophilus pleuropneumoniae infection in swine: A review. J. Am. Vet. Med. Assoc. 182: 1331-1337, (1983).
- 49.- Shope, R. E.: Porcine contagious pleuropneumonia. I. Experiment transmission, etiology and pathology. J. Exp. Med. 119: 357-368. (1964).
- 50.- Shope, R. R., White, D. C. and Leidy, G.: Porcine contagious pleuropneumonia. II. Studies of the pathogenicity of the etiological agent Haemophilus pleuropneumoniae. J. Exp. Med. 119: 369-375.

51.- Sirois, M., Lemire, E. G. and Levesque, R. C.: Construction of a DNA probe and detection of Actinobacillus pleuropneumoniae by using polymerase chain reaction. Journal of Clinical Microbiology 29. 6: 1183-1187 (1991).

52.- Smeltzer M. B. and Fenwick, B.: Serodiagnosis of Actinobacillus pleuropneumoniae infection by Western Blot.

Proceedings of the 69 th Conference of Research Workers Animal Disease, Chicago (1988).

53.- Smith I.M., Mackie, A. and Lida, J.: Effect of giving enrofloxacin in the diet to pigs experimentally infected with Actinobacillus pleuropneumoniae. Veterinary Record 129. 2: 25-29 (1991).

54.- Stephens, C.P., Gibson, J. A. and Blackall, P. J.: Porcine pleuropneumonia in Australian pig due to Actinobacillus pleuropneumoniae serovar 5 Australian Veterinary Journal 67. 12: 462 (1990).

55.- Straw, B. E., Tuovinen, V.K., Bigras-Poulin M.: Estimation of the cost of pneumonia in swine herds. J. Am. Vet. Med. Ass.: 1702-1706. (1989)

56.- Trigo, T.E.: Patogenia de la neumonia por Haemophilus. Avances en enfermedades del cerdo. Ediciones de la Asociación Mexicana de Veterinarios Especialistas en Cerdos. México, 461-463 (1985).

ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA

59

57.- Utrera, V., López, A. G. y Mariño, L.:
Serotipificación de Haemophilus (Actinobacillus)
pleuropneumoniae. Veterinaria Tropical 13: 43-54
(1990).