



11661₂

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLAN

**PERFIL SEROLOGICO DEL VIRUS DE INFLUENZA
PORCINA, *Mycoplasma hyopneumoniae* y *Actinobacillus
pleuropneumoniae* EN GRANJAS PORCINAS
LOCALIZADAS EN EL ESTADO DE YUCATAN**

T E S I S
Para obtener el grado de
MAESTRO EN CIENCIAS
(Área: Microbiología)

Presenta
M.V.Z. MARIO JAVIER ALVAREZ FLEITES

Directores:
Dr. Abel Ciprián Carrasco
Msc. Jorge Carlos Rodríguez Buenfil

Cuautilan, Izcali, Edo. de México, 2003.

A

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



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 esta 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.

**TESIS
CON
FALLA DE
ORIGEN**

H. JURADO

PRESIDENTE:

Dr. Francisco Suarez Güemez

VOCAL:

Dr. Álvaro Aguilar Setién

SECRETARIO:

Dr. Jorge Tórtora Pérez

PRIMER SUPLENTE:

M.C. Clara Inés Álvarez Manrique

SEGUNDO SUPLENTE:

Dr. Abel Ciprián Carrasco

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

B

DEDICATORIAS

- A mi esposa Minelia, hijos Cristina, Mario y David por su amor, comprensión y apoyo incondicional que siempre me han dado.
- Al MVZ Mario Alberto Gómez Medina (q.e.p.d.) por su amistad y ejemplo en la profesión veterinaria
- A Balbino que ha significado mucho en mi vida.
- A mi mama que gracias a dios todavía conservo, tia y hermano

C

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

AGRADECIMIENTOS

- **A los MVZ Rodolfo Valle Palma y al MVZ Jesús López Espinosa de los laboratorios Eli Lilly Elanco, Animal Health México por su valioso apoyo económico.**
- **A la QBA Sandra Villegas Pérez y a la MSc Guadalupe Ayora Tavera por su valiosa ayuda técnica para realizar el análisis de las muestras.**
- **A mis asesores MSc Jorge C. Rodríguez Buenfil y al Dr. Abel Ciprián Carrasco por su amistad, tiempo, dirección, dedicación y apoyo incondicional para concluir exitosamente el presente trabajo.**
- **A todas las personas de alguna forma me ayudaron para la realización del presente trabajo les doy las más sinceras gracias.**

D

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

RESUMEN

Entre los principales problemas que afectan a la porcicultura de producción intensiva en el ámbito mundial y en el estado de Yucatán se encuentra el Complejo Respiratorio Porcino (CRP). Siendo importante conocer la distribución y frecuencia de los agentes infecciosos involucrados en la población animal.

El presente estudio tuvo como objetivos: 1) Determinar la frecuencia de granjas con producción intensiva, que son positivas al virus de Influenza Porcina, a *Mycoplasma hyopneumoniae* y a *Actinobacillus pleuropneumoniae* en cerdos de engorda en el estado de Yucatán. 2) Determinar los seroperfiles de estos agentes en las etapas de destete, crecimiento, desarrollo y finalizado. 3) Determinar la frecuencia de los serotipos más comunes de *Actinobacillus pleuropneumoniae* en las diferente etapas de producción. 4) Determinar la frecuencia y distribución de los subtipos del virus de Influenza Porcina más comunes en cerdos de engorda.

Para lograrlos se realizó un estudio transversal de 25 granjas de ciclo completo, el tamaño de muestra fue de 40 animales por granja dividida en 10 cerdos para cada etapa de producción.

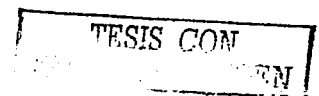
Las pruebas utilizadas para la detección de anticuerpos fueron, la prueba de Inhibición de la hemaglutinación para el virus de Influenza Porcina, una prueba de ELISA indirecta para *M. hyopneumoniae* y la prueba de aglutinación directa "Pleurotest" para *A. pleuropneumoniae*.

En los resultados se encontró una seroprevalencia de granjas para el virus de Influenza Porcina del 56%, mientras que para *M. hyopneumoniae* y *A. pleuropneumoniae* serotipo 1, fue del 100%. Del total de animales el 8.3% y 65.1% resultaron positivos al virus de Influenza Porcina subtipo H1N1 y H3N2 respectivamente. Para *M. hyopneumoniae* el 29.7% y para *A. pleuropneumoniae* serotipo 1, 3, y 7 fue de 11.5%, 7.4% y 10.1% respectivamente.

La seroconversión contra todos estos patógenos se incremento en la etapa de crecimiento y finalizado. De los resultados se puede concluir, que existe una alta seroprevalencia contra el virus de Influenza Porcina, *M. hyopneumoniae* y *A. pleuropneumoniae* en las granjas porcinas de producción intensiva del estado de Yucatán, encontrándose distribuidos en las diferentes etapas del periodo de engorda, con frecuencias diferentes.

PALABRAS CLAVES: cerdos de engorda, Seroprevalencia, Influenza Porcina, *M. hyopneumoniae*, *A. pleuropneumoniae*.

E



SUMMARY

One of the main problems that affect the intensive swine production systems in the world and particularly in the state of Yucatan is the Porcine Respiratory Disease Complex (PRDC). For this reason its distribution and frequency are considered important within animal population.

The objectives of this study were: 1) To determine the frequency of intensive swine production farms positives to the swine Influenza Virus (SIV), *Mycoplasma hyopneumoniae* and *Actinobacillus pleuropneumoniae* in fattening pigs in the state Yucatán, Mexico. 2) To determine seroconversion of Swine Influenza Virus, *Mycoplasma hyopneumoniae* and *Actinobacillus pleuropneumoniae* in the weaning, nursery, growing and finishing production stages. 3) To determine the frequency of serotypes of *Actinobacillus pleuropneumoniae* in the four stages production. 4) To determine frequency and distribution of the commonest Swine Influenza Virus subtypes in fattening pigs.

A transversal serological study was carried out in 25 conventional farms; 40 pigs were selected from each herd and divided randomly in four groups, consisting of ten animals per each production stages

Haemagglutination inhibition test was used to detect antibodies against SIV; indirect ELISA for *Mycoplasma hyopneumoniae* antibodies and direct agglutination test "pleurotest" was used for *Actinobacillus pleuropneumoniae*.

We found a farm seroprevalence of 56% for SIV and 100% for *Mycoplasma hyopneumoniae* and *Actinobacillus pleuropneumoniae* serotype 1. Of the total animal 8.3% and 65.1% were seropositive to SIV subtypes H1N1, H3N2 respectively; 29.7% was positive to *Mycoplasma hyopneumoniae* and 11.5%, 7.4% and 10.1% were positive to *Actinobacillus pleuropneumoniae* serotypes 1, 3 and 7 respectively.

Seroconversion against all respiratory pathogens increased mainly in both growing to finishing production stages. These results suggest that there is high seroprevalence against SIV, *Mycoplasma hyopneumoniae* and *Actinobacillus pleuropneumoniae* in the intensive swine production farms of the state of Yucatán, Mexico. The respiratory pathogens were found in the four production stages but with different frequency.

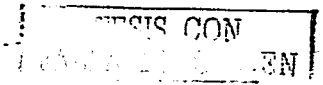
Key words: Fattening pigs, seroprevalence, Swine Influenza Virus, *Mycoplasma hyopneumoniae*, *Actinobacillus pleuropneumoniae*.

UNIVERSITY OF CALIFORNIA
LIBRARY
F

ÍNDICE

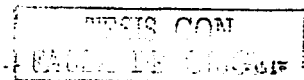
	Página
I INTRODUCCIÓN	1
II REVISIÓN DE LITERATURA	3
2.1 Complejo respiratorio porcino	3
2.2 Agentes involucrados	3
2.3 Distribución	4
2.4 Impacto económico	5
2.5 Influenza porcina	6
2.5.1. Historia de la enfermedad	6
2.5.2. Características del agente	6
2.5.3. Epidemiología	8
2.5.4. Signología clínica	10
2.5.5. Patogénesis	12
2.5.6. Lesiones	13
2.5.7. Diagnóstico	14
2.5.8. Tratamiento	15
2.5.9. Prevención y control	16
2.6 Neumonía micoplasmática	17
2.6.1. Características del agente	17
2.6.2. Epidemiología	18
2.6.3. Signos clínicos y Patogénesis	20
2.6.4. Diagnóstico	20
2.6.5. Control y prevención	21
2.7 PLEURONEUMONÍA CONTAGIOSA PORCINA	23
2.7.1. Características del agente	23
2.7.2. Epidemiología	24
2.7.3. Signos clínicos	25
2.7.4. Lesiones	26
2.7.5. Diagnóstico	27
2.7.6. Tratamiento	29
2.7.7. Prevención	30
2.8 EPIDEMIOLOGÍA SEROLÓGICA	32
III MATERIALES Y MÉTODOS	34
3.1. Área de estudio	34
3.2. Diseño del estudio	34

9



	Página
3.3. Pruebas diagnósticas	
3.3. 1. Influenza Porcina	35
A) Multiplicación del antígeno viral	35
B) Inhibición de la hemaglutinación	36
3.3.2. Neumonía micoplasmática	36
3.3.3. Pleuroneumonía Contagiosa Porcina	37
3.4. Análisis de datos	37
IV RESULTADOS	38
4.1. Influenza porcina	38
4.2. Neumonía micoplasmática.	39
4.3. Pleuroneumonía Contagiosa Porcina	40
V DISCUSIÓN	43
5.1. Influenza porcina	43
5.1.1. Frecuencia y distribución	43
5.2. Neumonía micoplasmática	44
5.1.2. Frecuencia y distribución	44
5.3. Pleuroneumonía Contagiosa Porcina:	46
5.1.3. Frecuencia y distribución	46
VI CONCLUSIONES	49
VII REFERENCIAS	50

H



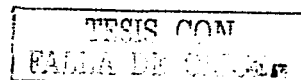
LISTA DE CUADROS

	Página
Cuadro 4.1.1 Número y porcentaje de cerdos seropositivos contra el virus de Influenza porcina subtipos H1N1 y H3N2 por etapa de producción en granjas porcinas del estado de Yucatán.	38
Cuadro 4.2.1 Número y porcentaje de animales que presentaron anticuerpos contra <i>Mycoplasma hyopneumoniae</i> en las diferentes etapas de producción en granjas del estado de Yucatán.....	39
Cuadro 4.2.3 Porcentaje de animales que presentaron anticuerpos contra <i>Actinobacillus pleuropneumoniae</i> serotipo 1, 3, y 7 por etapa de producción.	41

LISTA DE FIGURAS

Figura 4.1.1 Frecuencia y distribución de animales seropositivos contra el virus de Influenza Porcina subtipo H1N1 y H3N2 por etapa de producción.	39
Figura 4.2.1 Frecuencia y distribución de animales seropositivos contra <i>Mycoplasma hyopneumoniae</i> por etapa de producción.	40
Figura 4.3.1 Frecuencia y distribución de animales seropositivos contra <i>Actinobacillus pleuropneumoniae</i> serotipos 1,3, y 7 por etapa de producción.	42
Figura 4.3.1 Frecuencia y distribución del virus de Influenza Porcina subtipo H1N1, H3N2; <i>Mycoplasma hyopneumoniae</i> y <i>Actinobacillus pleuropneumoniae</i> serotipos 1 por etapa de producción.	42

I



I INTRODUCCIÓN

La producción de carne porcina en México es de 4,438,003 toneladas anuales. La porcicultura ha sido la principal fuente de abasto de carne y la que más cambios ha experimentado durante los últimos treinta años. En el estado de Yucatán la porcicultura es una actividad importante en términos de volumen de producción, como generadora de empleos y por la alta demanda que el producto tiene dentro de los hábitos alimenticios de la población.

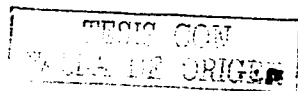
Los sistemas de producción intensiva enfrentan problemas graves siendo uno de ellos los de origen sanitario. Los problemas infecciosos crónicos que afectan el aparato respiratorio son de los más importantes. Se le ha denominado Complejo Respiratorio Porcino por la asociación de diversos factores que intervienen en su presentación con una patogénesis compleja que involucra múltiples agentes etiológicos, sin embargo la combinación de agentes infecciosos puede diferir entre sistemas, edificios o individuos.

Entre los agentes infecciosos importantes en el Complejo Respiratorio Porcino se encuentran los de origen viral. El Virus de Influenza Porcina causa una infección aguda en los cerdos, con la característica de que infecta en forma natural a un gran número de especies, incluyendo al humano. Asimismo presenta una morbilidad cercana al 100% y una mortalidad del 1%, siempre y cuando no se complique con problemas bacterianos. La importancia de este agente viral es la de comprometer las defensas pulmonares iniciando el complejo respiratorio porcino (Easterday, y Van Reeth, 1999).

Otro de los agentes infecciosos de importancia es el *Mycoplasma hyopneumoniae* por su presentación consistente en el complejo respiratorio porcino. Este microorganismo causa una bronconeumonía catarral típica que afecta hasta el 40% del parenquima pulmonar por lo cual ocasiona un decremento (17%) sobre la eficiencia alimenticia. Las infecciones asociadas a *Mycoplasma hyopneumoniae* producen cerdos más susceptibles a la pleuroneumonía contagiosa porcina causada por el patógeno primario más virulento del complejo respiratorio porcino; el *Actinobacillus pleuropneumoniae* (Stevenson, 1998).

Como tercer agente importante dentro del complejo respiratorio porcino se encuentra el *Actinobacillus pleuropneumoniae* causante de la pleuroneumonía contagiosa porcina la cual causa pérdidas económicas por el incremento en la tasa de mortalidad de 20% al 80% en animales de 12 a 16 semanas de edad. Los animales que logran recuperarse de la enfermedad de curso agudo quedan infectados de forma crónica siendo estos los principales diseminadores del problema cuando estos son introducidos en hatos libres de la enfermedad. Por lo general lo que ocurre en granjas de producción intensiva es que existen infecciones mixtas entre los diferentes patógenos mencionados lo que hace más difícil su diagnóstico y control (Stevenson, 1998).

La epidemiología serológica consiste en estudiar la enfermedad mediante la valoración de elementos presentes en el suero sanguíneo. Generalmente uno de los elementos más analizados son las inmunoglobulinas o anticuerpos las cuales son sintetizadas por estimulación ante la presencia de algún antígeno. Su medición se utiliza muy frecuentemente en Medicina Veterinaria como un método eficaz y económico, para detectar la presencia o la exposición a algún agente infeccioso. El método serológico es considerado como uno de los medios más



adecuados, debido a que se puede realizar en animales vivos con o sin signos clínicos, evitando su sacrificio para el diagnóstico. Sin embargo muchas pruebas serológicas presentan la desventaja de no ser tan específicas y sensibles.

En la actualidad se han desarrollado nuevas pruebas diagnósticas que se encuentran disponibles en la mayoría de los laboratorios, las cuales pueden ser utilizadas con mayor confianza. Sin embargo la selección de una prueba depende de los objetivos del estudio, pudiendo este ser para el establecimiento del diagnóstico de un agente infeccioso, su frecuencia, distribución o su evolución dentro de una población animal. También es importante considerar la sensibilidad y especificidad de las pruebas diagnósticas utilizadas debido a que de esta forma se puede evaluar la eficacia de las mismas, siendo lo deseable que ambas medidas se encuentren balanceadas (Navarro, 1988; Thrusfield, 1990; Pijoan, 1994).

En Yucatán existe poca información en porcinos en los que se haya utilizado como herramienta metodológica la epidemiología serológica. Los trabajos realizados se han basado en animales que llegan al rastro, pero los resultados generados se encuentran sesgados o confundidos pues se pierde una valiosa información con los animales que mueren o que tienen que ser sacrificados por razones humanitarias. Este trabajo adquiere relevancia debido a que es el primero realizado en el Estado, en el cual se está midiendo la frecuencia y distribución del virus de Influenza Porcina del cual se dudaba su existencia o se descartaba como un agente importante dentro del Complejo Respiratorio Porcino.

Basado en lo anterior los objetivos del presente trabajo fueron los siguientes:

a) Determinar la frecuencia de granjas de producción intensiva seropositivas al virus de influenza porcina, a *Mycoplasma hyopneumoniae* y a *Actinobacillus pleuropneumoniae*.

b) Determinar los Seroperfiles del virus de influenza porcina, *Mycoplasma hyopneumoniae* y *Actinobacillus pleuropneumoniae*, en las etapas de destete, crecimiento, desarrollo y finalización en granjas de producción intensiva del Estado de Yucatán.

c) Determinar la frecuencia de los serotipos más comunes de *Actinobacillus pleuropneumoniae* en las etapas de destete, crecimiento, desarrollo y finalización.

d) Determinar la frecuencia de los subtipos del virus de influenza porcina más comunes en cerdos de engorda, en granjas de producción intensiva del Estado de Yucatán

II REVISIÓN DE LITERATURA

2.1 COMPLEJO RESPIRATORIO PORCINO.

La neumonía es la patología que causa más pérdidas económicas por razones de salud en los cerdos de engorda, dentro de los sistemas intensivos de producción. Las pérdidas están asociadas a mortalidad elevada, costos de tratamientos, aumento en el uso de alimento y pérdidas en el mercado por las variaciones de la ganancia diaria y por los pesos finales. En ocasiones, la presentación de los signos clínicos respiratorios evoluciona a partir de pocos cerdos de 2 a 4 semanas de vida después de que llegan a la engorda (Stevenson, 1998). La morbilidad aumenta lentamente hasta que se observa un incremento en la misma, asimismo la mortalidad se incrementa por un período de una a dos semanas en animales de 16 a 18 semanas de edad. Este brote ha sido descrito como "la pared de las 17-18 semanas"(Stevenson, 1998; Janke, 2001), las pruebas diagnósticas y los estudios de campo han demostrado de manera consistente la presencia de múltiples patógenos potenciales en el cerdo afectado dentro de un edificio o de un sistema. Esto ha llevado a la utilización de un nuevo término, el de complejo respiratorio porcino (CRP). El término implica una patogénesis compleja que involucra múltiples agentes etiológicos, sin embargo, la combinación de agentes infecciosos pueden diferir entre sistemas, edificios o individuos (Stevenson, 1998; Janke, 2001).

2.2 AGENTES INVOLUCRADOS:

Los agentes etiológicos importantes en el complejo respiratorio porcino se encuentran clasificados en dos categorías. Los patógenos primarios y secundarios; los primeros por si solos pueden causar neumonía, porque tienen la capacidad de colonizar el epitelio mucociliar y a los macrófagos alveolares, causando lesión al parenquima pulmonar y disminuyendo sus defensas. Los patógenos primarios de origen viral más comunes son: el virus del Síndrome Respiratorio y Reproductivo Porcino, el virus de Influenza Porcina, el Coronavirus respiratorio porcino, el virus de la enfermedad de Aujeszky, el virus de la Fiebre Porcina Clásica, el Ruvulavirus porcino y el Cytomegalovirus. Otros agentes son los Micoplasmas como el *Mycoplasma hyopneumoniae* y el *M. hyorhinis* y finalmente los agentes bacterianos como *Actinobacillus pleuropneumoniae*, *Haemophilus parasuis*, *Pasteurella multocida* tipo "D" toxigénica, *Bordetella bronchiseptica*, *Streptococcus suis* y *Salmonella choleraesuis* (Ciprian y Mendoza, 1994; Rodríguez *et al.*, 1996; Estrada, 1998). Los patógenos primarios son los iniciadores del complejo respiratorio porcino.

Los patógenos secundarios del CRP solo son capaces de infectar y lesionar el pulmón si las defensas del mismo son comprometidas (Stevenson, 1998). Los causantes más comunes de este compromiso a las defensas del pulmón son los patógenos primarios al afectar al aparato mucociliar y/o a los macrófagos alveolares. Los patógenos secundarios son comensales bacterianos del tracto respiratorio anterior, que mediante el daño al pulmón pueden invadir, proliferar y producir bronconeumonía purulenta. Estos incluyen a la

Pasteurella multocida, *Streptococcus suis*, *Haemophilus parasuis* y *Bordetella bronchiseptica*.

Los patógenos secundarios del CRP son comensales bacterianos, aumentando la lesión del pulmón iniciada por los patógenos primarios y generalmente son responsables de la mayoría de las pérdidas en la producción y mortalidad asociada al CRP. A pesar de que los patógenos primarios inician el CRP, múltiples patógenos secundarios se encuentran presentes en los grupos de cerdos afectados. Un solo antibiótico es raramente efectivo contra todos los agentes bacterianos secundarios involucrados en el brote. Por este motivo la terapia de antibióticos enfocada a corregir el brote de CRP puede ser marginalmente exitosa sin resultados alentadores. Los esfuerzos para minimizar el impacto financiero del CRP deben enfocarse a la prevención.

Es importante entender las infecciones en las cuales dos o más agentes están interactuando e infectan al mismo tiempo al hospedero. Las interacciones más documentadas son las relativas a los síndromes neumónicos y diarreicos. El concepto multi-etiológico es la forma más lógica para enfrentar las enfermedades de origen microbiano en las granjas porcinas de producción intensiva. La Interacción de *Mycoplasma hyopneumoniae* y *Actinobacillus pleuropneumoniae* son la causa principal de las enfermedades respiratorias en su presentación crónica o aguda en cerdos finalizados (Loeffen, 2001). En un estudio realizado en Holanda entre el año de 1995 y 2000 se encontraron que los agentes primarios más importantes en las afecciones respiratorias agudas en cerdos en la fase de finalización fueron el virus de Influenza Porcina (53%) y *Actinobacillus pleuropneumoniae* (26%) (Loeffen *et al.*, 1999).

Los agentes etiológicos importantes reportados en el CRP en México son el Virus de Influenza Porcina, el virus de la enfermedad de Aujeszky, el virus de la Fiebre Porcina Clásica, *Mycoplasma hyopneumoniae*, *Pasteurella multocida* tipo "A", *Actinobacillus pleuropneumoniae*. (Ramírez, 1981; Ciprian y Mendoza, 1994; Rodríguez *et al.*, 1996; Estrada, 1998)

2.3 DISTRIBUCIÓN.

Los problemas respiratorios porcinos se encuentran distribuidos en todo el mundo, incluyendo a los Países de América Latina, Unión Europea, Norte América, sureste Asiático y la República Popular China.

En México se ha reportado a través de diversos estudios que la prevalencia es de 70%, 49% y 53% en tres áreas importantes de producción de cerdos. Estrada (1998), reporta que las prevalencias de problemas respiratorios en estudios realizados en animales sacrificados en los rastros es de 51-55%. Lugo *et al.* (1990), realizaron un estudio en el Estado de México similar al anterior encontrando el 86% de los sueros positivos contra *A. pleuropneumoniae*.

En Yucatán se conoce poco sobre los agentes involucrados en el Complejo Respiratorio Porcino. Torres (1995) en un estudio realizado en el rastro, reporta una frecuencia del 64% al 95% de animales con lesiones de neumonía al momento del sacrificio.

En un estudio realizado por Moguel (1997), en el estado de Yucatán detectó un 96.99% de granjas positivas contra *Actinobacillus pleuropneumoniae* con prevalencia igual o mayor al 20%. En este estudio se utilizó la técnica de aglutinación en placa para detectar la presencia de anticuerpos específicos.

En este mismo estudio el 48.3% de los sueros resultaron positivos a uno o más de los serotipos de *A. pleuropneumoniae*. El serotipo 3 fue el más frecuente (60%), seguido por el 1 (47%), el 5 (21%) y el 7 (14%). El 62% de los sueros analizados aglutinaron para un solo serotipo y el 37% aglutinaron con más de un serotipo. Las combinaciones más frecuentes de serotipos fueron 1 con 3 en un 9% y 1 con 5 en un 8.5%. Del total de granjas muestreadas en el 94% se encontró cuando menos un animal seropositivo a *M. hyopneumoniae*. En el 36% de los sueros se encontró la presencia de anticuerpos contra *M. hyopneumoniae*.

Torres (1995) en Yucatán realizó un muestreo en cerdos al momento de ser sacrificados en el rastro encontrando 58% de las muestras positivas contra *A. pleuropneumoniae*. Se puede observar que la pleuroneumonía se encuentra muy difundida en las granjas del estado de Yucatán.

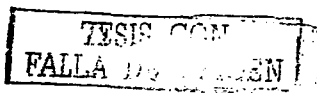
2.4 IMPACTO ECONÓMICO

Las pérdidas económicas debidas a las enfermedades respiratorias dependen de la edad del cerdo, la severidad de la infección y el curso de la enfermedad después del brote. Por lo tanto resulta muy difícil estimar las pérdidas en todos los casos. En un trabajo realizado en Holanda en el cual se revisaron los registros de más de 115,000 cerdos sacrificados procedentes de más de 500 piaras, el aumento diario de peso en promedio durante el período de engorda disminuyó en aproximadamente 30 gramos por cerdo por día debido a la pleuresía severa o a la neumonía. La reducción de la ganancia diaria fue de 23 gr durante el periodo de servicios como resultado de la pleuresía severa (Tielens, 1995). Los casos de pleuritis observados en el rastro tienen como antecedentes enfermedades respiratorias en el hato reproductor, por lo tanto si se desea prevenir la pleuresía se deberá de prestar atención a la prevención en los animales reproductores. Tielens (1995), reporta que el crecimiento real por cerdo se reduce en promedio 54 gr al día, en hatos con prevalencias mayores de 30%.

En un trabajo donde se evaluó el impacto de *M. hyopneumoniae* y *Pasteurella multocida* tipo A se observaron diferencias en el peso vivo al momento de vender los animales (108.39 Kg contra 96.10 kg de peso vivo), los valores de la conversión alimenticia fueron superiores para la población afectada (3.14 contra 4.14) el costo por kg de alimento consumido fue mayor (3.4 contra 4.09) y el porcentaje de mortalidad fue más elevado en comparación con los cerdos no afectados (1.2 contra 7.76). Los costos por medicación y uso de biológicos se incrementaron (6.49 contra 2.47). Los mejores indicadores de producción se lograron de una granja que estableció un programa estratégico para el control del Complejo Respiratorio Porcino (Estrada, 1998).

Hill *et al.* (1992 y 1994), reportan que en un cerdo con un 10% de volumen de pulmón afectado se puede esperar una disminución en la ganancia media diaria de 41.1 gr y un incremento de 16.7 días en salir al mercado. Estrada (1998), menciona que en un estudio realizado en Colombia, al evaluar el efecto causado por lesiones asociadas a pleuritis, se observó un aumento de 14 días para llegar a su peso promedio de venta, incrementando el costo por alimento en \$79.80 por cerdo.

El mismo autor menciona un estudio realizado en Venezuela, en el cual se realizaron inspecciones en rastros para clasificar las lesiones de los cerdos afectados basados en el



protocolo Total Respiratory Analysis & Control (TRAC-Clinics). La pérdida económica estimada en dólares en animales con más de 10% del tejido pulmonar afectado fue de \$3.66 por cerdo. Se reporta que por día de retraso a mercado y con mortalidad de 1% en el área de finalizado, la pérdida en el costo por cerda por año es de 13.61 y de 15.59 dólares respectivamente.

La prevención o disminución del impacto económico del CRP, requiere de una identificación diagnóstica de los patógenos primarios comunes en una granja o sistema, seguido de la implementación de la vacunación y protocolos de medicación estratégicas, así como de las tecnologías de manejo adecuadas (Clark, 1997; Stevenson, 1998)

Las prácticas de manejo empleadas en la granja afectan dramáticamente la incidencia del CRP. Ejemplo de lo anterior sería el número de sitios por sistema, el número de fuentes de cerdos por sitio, la presencia o ausencia de instalaciones de aislamiento, el uso de prácticas de manejo todo adentro todo afuera o de flujo continuo, la edad promedio y máximo de lactancia y que tan estrictas son las medidas de bioseguridad. Por último se puede concluir que el control efectivo del CRP requiere de un programa diseñado para cada granja o sistema en particular basado en un diagnóstico exacto (Fedorka-Cray *et al.*, 1993; Clark, 1997; Stevenson, 1998).

2.5 INFLUEZA PORCINA:

2.5.1 HISTORIA DE LA ENFERMEDAD

La influenza porcina es una enfermedad aguda respiratoria, que afecta al cerdo, el agente etiológico es el virus de la influenza tipo A (VIP). La enfermedad se caracteriza por un ataque repentino de tos, disnea, fiebre y postración, seguido por una rápida recuperación. Las lesiones y la recuperación se desarrollan rápidamente, pero en algunos casos las lesiones son tan severas que puedan causar la muerte (Easterday y Van Reeth, 1999; Taylor, 1999b; Andreassen *et al.*, 2000). El curso y la severidad de la enfermedad están relacionadas con las cepas virales, la edad y el estatus inmunológico del cerdo, así como de la presencia de otros agentes respiratorios en la granja.

La enfermedad se describió por primera vez en 1918 en los Estados Unidos de Norteamérica, coincidiendo con una pandemia de Influenza en humanos. Esta última fue originada por un virus que actualmente se le conoce como el virus clásico porcino H1N1 (Easterday y Van Reeth, 1999; Janke, 2001).

2.5.2 CARACTERÍSTICAS DEL AGENTE

La Influenza porcina es causada por el virus de influenza tipo A, de la familia *Orthomixoviridae*. Existe gran cantidad de información sobre la estructura, genética, antigenicidad y características biológicas de la partícula del virus tipo A de influenza (Easterday y Van Reeth, 1999). El virus es pleomórfico, de tamaño medio, presenta una envoltura con glicoproteínas en su superficie que comúnmente se les denominan "espículas". Esta glicoproteínas son los principales antígenos de superficie. Su estructura química es de dos

clases: hemaglutininas (H) y neuraminidasas (N). Se reconocen 15 hemaglutininas y 9 neuraminidasas diferentes y cada virus posee una de cada una específica (Brown *et al.*, 1994; Janke, 2001).

La hemaglutininas son las responsables de la unión del virus con la célula blanco y causan la aglutinación de los eritrocitos. La neuraminidasa es la responsable de la liberación enzimática del virus de los eritrocitos y puede jugar un papel importante en la liberación del virus de las células infectadas (Joklik *et al.*, 1983).

Los anticuerpos dirigidos contra la hemaglutinina son los más importantes para prevenir la infección contra el virus que tenga la misma hemaglutinina, mientras que los anticuerpos dirigidos contra la neuraminidasa restringen la diseminación del virus de células infectadas a células susceptibles. (Easterday y Van Reeth, 1999; Taylor, 1999b)

Las glicoproteínas H y N se encuentran incrustadas dentro de la envoltura lipídica que recubre el núcleo viral. La matriz (M), línea molecular proteica, se encuentra debajo de la envoltura y rodeando el núcleo, en cuyo interior se encuentra el complejo helicoidal del ácido ribonucleico (ARN) en asociación con la nucleoproteína viral (NP) y las polimerasas que inician la replicación (Joklik *et al.*, 1983; Brown *et al.*, 1993).

Los virus de Influenza se encuentran clasificados como tipo A, B ó C. El criterio de clasificación se basa sobre la relación antigénica de la nucleoproteína y de las proteínas de la matriz. El genoma viral consiste de 8 segmentos de ARN que codifica 10 proteínas virales (Joklik *et al.*, 1983; Brown *et al.*, 1993b; Easterday y Van Reeth, 1999; Janke, 2001).

Las características antigénicas de los dos tipos de glicoproteínas de superficie sirven de base para dividir el virus en dos subtipos. El sistema común de nomenclatura del virus de influenza introducido en 1980, incluye el tipo de hospedero, lugar y número de cepa, año de aislamiento y subtipo antigénico (WHO, 1980; Brown *et al.*, 1993b). Como ejemplo: el virus aislado en Wisconsin en 1984, es designado como A/Swine/Wis/1/84 (H1N1). La primera característica identifica al tipo, seguido por el hospedero del cual se aisló (excepto el humano) la región geográfica, el número de la cepa, el año de aislamiento y el subtipo antigénico de la H y N encerrado en paréntesis.

Los tres subtipos del virus de influenza más comúnmente encontrados, que circulan en la población porcina a escala mundial son: El H1N1 clásico, H1N1 semejante al aviar y el H3N2 semejante al humano (Brown *et al.*, 1993b). La inmunidad contra un virus de influenza H1N1 no protege contra los virus de los subtipos H3N2 y viceversa.

Existe el reporte de una cepa H1N1 aislada en Estados Unidos de Norteamérica, con variaciones antigénicas leves en su hemaglutinina, pero estos eventos no son comunes. El virus de Influenza H3N2 es en ocasiones menos estable, en aislamientos recientes se puede observar una ligera variación antigénica cuando se compara con los virus prototipos aislados en años anteriores. En contraste con los virus de influenza que circulan dentro de la población de cerdos, los virus H1N1 y H3N2 de humanos, continúan teniendo cambios antigénicos marcados. La razón de este acontecimiento no es clara, sin embargo puede deberse a la poca presión inmune a que están expuestos los virus porcinos, debido a que los cerdos tienen una vida corta y estos virus continuamente se están transmitiendo a cerdos susceptibles no infectados y en consecuencia no inmunes (Easterday y Van Reeth, 1999; Webby *et al.*, 2000).

Debido a que el genoma viral es segmentado, los cambios genéticos o reordenamientos entre los diferentes virus de influenza tipo A, pueden ocurrir durante infecciones mixtas. El

reacomodo genético entre virus de influenza de origen humano y animales, se considera como el principal mecanismo para el origen de nuevas cepas humanas las cuales causan pandemias (Zhou *et al.*, 1999; Brown, 2000; Webby *et al.*, 2000).

Con base a esta afirmación, los virus humanos y aviáres con reacomodos genéticos (H1N1), se han aislado de cerdos criados y mantenidos bajo condiciones comerciales y de niños asociados con cerdos infectados. En adición, otros virus con reacomodos genéticos también se han aislado de cerdos, virus del subtipo H1N2 se aisló de cerdos en Japón en el año de 1978 (Sugimura *et al.*, 1980) en Francia en 1987 y 1988 (Gourreau *et al.*, 1994) y en el Reino Unido en 1994 (Brown *et al.*, 1993b; Brown, 2000).

El virus subtipo H3N1 y H1N7 (Brown *et al.*, 1994), se aisló en el Reino Unido al principio de 1990. Con excepción del Reino Unido, el reacomodo viral H1N2 no se disemina dentro de la población porcina. La presencia de anticuerpos contra el virus de influenza tipo B y C se han reportado en cerdos únicamente en el Reino Unido (Easterday y Van Reeth, 1999).

2.5.3 EPIDEMIOLOGÍA

Quando se quiere conocer y entender la epidemiología del virus de influenza porcina, se tiene que abarcar tres aspectos fundamentales. Como primer punto se tendría que revisar la epidemiología dentro de la población porcina en segundo término la transmisión inter especie y como tercer punto los aspectos relacionados con la Salud Pública (Easterday y Van Reeth, 1999; Van Reeth y Guan, 2000).

Influenza Porcina Aguda

La presencia de influenza porcina dentro de una población porcina está comúnmente asociada con movimiento de animales, la introducción de animales para el área de pie de cría o animales adquiridos para el área de engorda o el retorno de animales de autoreemplazo al hato reproductor. Muchos brotes explosivos están claramente relacionados al movimiento de animales de granjas infectadas a granjas libres (Brown *et al.*, 1994; Brown, 2000; Janke, 2001).

La ruta de transmisión es de cerdo a cerdo por contacto directo. La secreción nasal contiene grandes cantidades de virus durante los estados febriles de la enfermedad, originando una importante fuente de infección. Los cerdos se infectan en una forma rápida bajo condiciones experimentales por la instalación de virus sobre la superficie del epitelio nasal o por la exposición de partículas virales por medio de aerosoles (Brown *et al.*, 1993; Janke, 2001).

La transmisión por contacto es fácilmente demostrada bajo condiciones experimentales. En regiones altamente pobladas, la diseminación por medio del aire puede contribuir a brotes epidémicos explosivos en áreas geográficas extensas, principalmente en poblaciones inmunológicamente desprotegidas (Easterday y Van Reeth, 1999).

La infección puede reaparecer en el hato reproductor cuando no se realiza la despoblación completa de animales enfermos y se permite la circulación viral. Bajo estas condiciones los lechones pueden infectarse muy jóvenes aun con la presencia de anticuerpos calostrales. En muchas ocasiones el virus de influenza porcina desaparece después de un brote (Carlton, 1999; Brown, 2000).

Dependiendo de la prevalencia en una región determinada el virus puede ser introducido causando infección en los animales reproductores seronegativos o en los cerdos de engorda. La prevalencia y distribución del virus de influenza y sus subtipos, son diferentes en las distintas regiones del mundo y pueden existir diferencias dentro de un país o continente (Brown *et al.*, 1994; Easterday y Van Reeth, 1999).

Cuando se reportan brotes agudos dentro de una población porcina, durante determinada estación o en los meses mas fríos, es una evidencia de que el virus se encuentra circulando durante todo el año. Estos brotes coinciden con fluctuaciones de temperatura muy rápidas y amplias con bajas temperaturas por las noches y temperaturas altas durante el día (Taylor, 1999b).

En un estudio realizado en Estados Unidos por un periodo de 14 meses, en cerdos de engorda se recuperaron 478 virus de influenza de aproximadamente 9,400 cerdos muestreados, de igual forma se encontraron en el 21% de estos animales anticuerpos contra el subtipo H1N1. También se demostró la presencia del virus durante todo el año.

En Europa el virus de influenza porcino H1N1 semejante al aviar y el H3N2 cocirculan ampliamente con una frecuencia alta y permanecen en forma enzootica en muchas regiones (Brown, 2000; Van Reeth y Guan, 2000). Estudios serológicos de sueros de cerdos finalizados en Bélgica, han demostrado que la prevalencia de los subtipos H1N1 y H3N2 son de 92% y 57% respectivamente; en Holanda de 60% y 30%, en España 73% y 62%, en Alemania 55% y 51% (Brown *et al.*, 1993; Easterday y Van Reeth, 1999).

En áreas enzooticas algunas granjas pueden permanecer libres de la enfermedad, consecuentemente la mayoría de las camadas provienen de marranas inmunes, las cuales les confieren anticuerpos contra el virus por medio del calostro. Los anticuerpos calostrales les pueden proveer protección contra la enfermedad, pero no protegen a los animales contra la infección (Easterday y Van Reeth, 1999).

En granjas donde el virus circula en forma continua, los cerdos jóvenes pueden ser afectados aun con la presencia de anticuerpos calostrales. Un patrón tipo de comportamiento, se ha observado en granjas comerciales finalizadoras donde se practica todo dentro todo fuera. En este tipo de granja, los animales generalmente entran a la unidad a la semana 9 a 10 de vida, provienen de diferentes hatos reproductivos. La probabilidad de que algunos animales se encuentren infectados cuando ingresa al área es alta. Estos actúan como fuente de infección diseminando el problema entre los animales sanos a las pocas semanas de su ingreso (Andreasen *et al.*, 2000; Brown, 2000).

Existe información de que infecciones intercurrentes son comunes en los sistemas de producción intensiva en Europa entre los subtipos H1N1 y H3N2, el Coronavirus Respiratorio Porcino y el Virus del Síndrome Respiratorio y Reproductivo Porcino (Loeffen, *et al.*, 1999; Janke, 2001).

TRANSMISIÓN INTERESPECIE

El virus A de influenza infecta a diferentes especies en forma natural, incluyendo al humano, pequeños mamíferos y pájaros, es claro que el cerdo esta involucrado en el cambio de este virus en la naturaleza. El subtipo H1N1 puede introducirse dentro de la población aviar y se le ha responsabilizado de la enfermedad presente en los pavos (Zhou *et al.*, 1999; Brown, 2000; Van Reeth y Gual, 2000).

La infección del cerdo con el virus de origen humano H3N2, se ha demostrado en forma concluyente. Un virus semejante a la cepa A/Hong Kong/68 se aisló de cerdos en Taiwan, posteriormente este virus se encontró en la especie humana. La infección con cepas humanas ocurre bajo condiciones naturales. (Zhou *et al.*, 1999; Van Reeth y Gual, 2000). A principios de los años 70'S un virus H3N2 cruzó de humanos hacia cerdos y se ha establecido dentro de la población porcina en todo el mundo, ocasionalmente asociado con brotes (Brown *et al.*, 1993; Zhou *et al.*, 1999; Brown, 2000). La cepa H3N2 que se observó primero en el hombre en 1973, se transmitió al porcino y empezó a asociarse claramente con la enfermedad en esta especie a partir de 1984 (Pensaert, 1995; Zhou *et al.*, 1999; Brown, 2000), de esta manera dos virus de influenza con estructura antigénica diferente, causan enfermedad en el cerdo.

ASPECTOS DE SALUD PÚBLICA

En enero de 1976 se aisló un virus de influenza, con una relación muy cercana con virus de influenza porcina. Los pacientes fueron reclutas del ejército en Nueva Jersey USA. Se presentaron muchos casos de enfermedad respiratoria aguda y la investigación serológica demostró que varios cientos de reclutas se habían infectado. Especulaciones acerca de la naturaleza zoonótica del virus de influenza porcina se establecieron a fines de noviembre de 1976, cuando un virus H1N1 se aisló de cerdos y de trabajadores de una granja de Wisconsin. (Easterday y Van Reeth, 1999).

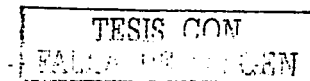
Los cerdos habían enfermado por 2 a 3 días con los signos clásicos de influenza porcina, cuando uno de los trabajadores enfermó presentando signos moderados, muestras del humano y de los cerdos se recolectaron el mismo día. El virus se recuperó de 6 de 8 cerdos y de un trabajador joven por un período de aproximadamente 18 horas. Se caracterizó el virus del humano y de los cerdos resultando ser idénticos (Easterday y Van Reeth, 1999).

Los casos documentados de transmisión del virus de influenza porcina de casos fatales en humanos, por contacto con cerdos, constituyen un indicador claro del potencial zoonótico del virus de influenza que infecta a los cerdos y el papel potencial del cerdo en la transmisión de nuevas cepas que pueden causar pandemias en humanos. El potencial Zoonótico del virus de influenza porcina debe ser reconocido y respetado (Pensaert, 1995; Van Reeth y Gual, 2000).

2.5.4 SIGNOLOGÍA CLÍNICA:

El periodo de incubación es de 1 a 3 días. Muchos de los animales infectados presentan signos al mismo tiempo, se observa anorexia, inactividad, postración, temperatura corporal elevada de 40.3°C a 40.6°C. escuchándose tos y estornudo. Respiran con el hocico abierto, en forma laboriosa con jadeo especialmente cuando los animales son forzados a realizar actividad física (Taylor, 1999b).

Los movimientos pueden estar acompañados por accesos de tos, semejantes a los producidos por los perros, se presenta conjuntivitis, rinitis, descarga nasal y edema periorcular (Easterday y Van Reeth, 1999; Taylor, 1999b). Se observa pérdida de peso debido a la anorexia. La morbilidad es alta, cercana al 100%, pero la mortalidad es baja, menor al 1%, siempre y cuando no existan infecciones concomitantes o cuando los cerdos enfermos no sean



muy jóvenes. Generalmente la recuperación ocurre entre el 5 - 7 día después de que se observan los primeros síntomas (Loeffen *et al.*, 1999; Taylor, 1999b; Andreassen *et al.*, 2000).

En el continente Europeo, la introducción repentina del virus de influenza en granjas negativas, de ciclo completo, típicamente se observa la forma aguda de la enfermedad, principalmente en animales alojados en el área de finalizado, con un peso de 50 Kg o un poco mayores. En un estudio longitudinal realizado en Holanda, en granjas de ciclo completo en el año de 1996, se demostró que la infección y la enfermedad característica ocurren alrededor de la semana 18 de edad (Easterday y Van Reeth, 1999; Loeffen *et al.*, 1999). Muchos de los animales reproductores habían adquirido una inmunidad activa, como resultado de una infección previa, debido a que la inmunidad materna residual no pudo evitarla.

Por el método clínico no pueden ser diferenciadas las infecciones con virus de los subtipos H1N1 y H3N2 (Loeffen, 2001) y ambos virus se han correlacionado con episodios respiratorios agudos en Bélgica, Francia, España, Italia y Holanda.

Los brotes típicos de Influenza Porcina pueden ser reproducidos en forma experimental solo bajo condiciones específicas. La tasa de crecimiento se retrasa por un periodo de 5 a 8 días y la pérdida de peso se afecta entre 5-6 Kg. al momento de su venta (Estrada, 1998; Loeffen *et al.*, 1999).

En adición a la enfermedad clínica aparente, la infección subclínica frecuentemente ocurre y se detecta solo por la alta seroconversión de ambos subtipos de virus en cerdos finalizados. Múltiples factores tales como estatus inmunitario, edad, presión de infección, infecciones intercurrentes, condiciones climáticas e instalaciones, pueden determinar la aparición clínica de una infección con virus de influenza. La infección clínica se observa principalmente en los meses fríos (Easterday y Van Reeth, 1999).

Las infecciones intercurrentes son los factores más importantes que complican la infección del virus de influenza. Esto se conoce desde hace años pues las infecciones secundarias causadas por bacterias que afectan el sistema respiratorio tales como: *Actinobacillus pleuropneumoniae*, *Pasteurella multocida*, *Haemophilus parasuis* y *Streptococcus suis* tipo 2, complican la severidad y el curso de la infección causado por el virus de influenza (Estrada, 1998; Stevenson, 1998; Loeffen, 2001).

En recientes observaciones, realizadas bajo condiciones naturales, se sugiere que los virus que afectan el sistema respiratorio actúan como factores complicantes. Se ha demostrado que la presencia de infecciones duales o triples, con los virus de influenza, el Coronavirus Respiratorio Porcino (PRCV) o el virus del Síndrome Respiratorio y Reproductivo Porcino (PRRS) son extremadamente altas en Europa, en unidades de engorda intensivas (Van Reeth y Pensaert, 1994; Janke, 2001). El escenario clínico con asociaciones, es menos característico que el de la forma de brote agudo y usualmente solo del 20% al 50% de los cerdos en la granja presentan problemas de tipo respiratorio, fiebre y disminución del consumo de alimento. Sin embargo, las pérdidas económicas resultan por los altos costos por medicación, por incremento de la mortalidad y por un pobre desempeño productivo (Van Reeth y Pensaert, 1994; Van Reeth y Guan, 2000).

Trabajos experimentales le han dado soporte a la hipótesis de que infecciones mixtas del virus de influenza con otros patógenos que afectan el sistema respiratorio ocasionan un cuadro más severo de la enfermedad. En estos estudios, la fiebre, los problemas respiratorios y el retardo en el crecimiento fueron significativamente más severos y de mayor duración en infecciones duales que en cerdos infectados por un solo virus. Sin embargo existen factores no

conocidos que son críticos para el desarrollo del efecto clínico seguido de la infección dual (Estrada, 1998; Stevenson, 1998; Easterday y Van Reeth, 1999).

Recientes evidencias sugieren que la variante aviar o "avian like", H1N1 que circula en Europa, ha adquirido una característica más patógena que la cepa clásica H1N1 que circula en los Estados Unidos de Norteamérica y en otros países. Por observaciones y reportes se sugiere que ahora el virus de influenza porcino (VIP) ocurre con una mayor frecuencia y significancia económica en Europa, que en los Estados Unidos de Norteamérica (Easterday y Van Reeth, 1999; Van Reeth y Guan, 2000).

Productores y veterinarios, ocasionalmente reportan problemas neonatales, reproductivos y al momento del parto, tales como abortos, nacidos muertos, infertilidad y camadas pequeñas, asociados con brotes del VIP. En un reporte realizado por Carlton (1999), se observaron los efectos del VIP cepa H3N2 el cual causó problemas reproductivos en las granjas donde se presentaron brotes. No existe suficiente información para concluir que el VIP tenga una significancia específica y adversa, asociada con problemas reproductivos, al nacimiento o perinatales (Carlton, 1999; Easterday y Van Reeth, 1999; Erickson y Swenson, 2000).

2.5.5 PATOGÉNESIS

La infección con el VIP generalmente se encuentra limitada al sistema respiratorio, detectándose la viremia solo en raras ocasiones. Brown *et al.* (1993), reportan el aislamiento viral en el suero de animales infectados en forma experimental, sin embargo el virus pudo ser aislado durante solo unos días y los títulos fueron bajos en las muestras de suero. Un intento de demostrar la replicación viral en sitios diferentes al sistema respiratorio no tuvo éxito. La replicación viral se ha demostrado en la mucosa nasal, tonsilas, traquea, nódulos linfáticos traqueobronquiales y pulmones. El pulmón ha sido el principal órgano blanco (Easterday y Van Reeth, 1999; Taylor, 1999b).

En la inoculación intratraqueal de cerdos, los títulos en el pulmón pueden ser tan altos como 10^8 EID₅₀/gr de tejido (Easterday y Van Reeth, 1999). Se ha demostrado por medio de estudios con inmunofluorescencia e inmunoperoxidasa la replicación rápida del virus y la alta especificidad y tropismo hacia el epitelio bronquiolar (Brown *et al.*, 1993). En un estudio realizado para comprobar el sitio de multiplicación viral, las células del epitelio bronquiolar se teñían positivamente 2 horas posteriores a la infección, a las 16 horas grandes áreas del epitelio bronquiolar se observaban positivas, la tinción fue intensa hasta por 72 horas posteriores a la infección y luego comenzó a disminuir (Easterday y Van Reeth, 1999). El antígeno también fue detectado en el septo alveolar dentro de las primeras 4 horas después de la infección. La tinción fluorescente desaparece por el día 9 tanto en el alvéolo como en el bronquio. En bronquio y bronquiolo se observa exudado típico con células mucosas destruidas y degeneradas así como la presencia de neutrófilos (Brown *et al.*, 1993).

Se tiene poca información acerca del VIP a nivel celular. Estudios recientes en cerdos privados de calostro, sugieren que la producción bronquio-alveolar del factor de necrosis tumoral y la interleucina 1 contribuyen a la lesión típica y a los cambios inflamatorios del pulmón, seguidos de la infección viral (Brown *et al.*, 1993; Van Reeth y Guan, 2000; Van Reeth, 2000).

2.5.6 LESIONES

LESIONES MACROSCÓPICAS:

Las lesiones encontradas en casos no complicados de VIP son principalmente las causadas por una neumonía viral. Las lesiones se encuentran principalmente limitadas a los lóbulos apicales y cardíacos, pero en casos muy severos, más de la mitad de los pulmones pueden estar afectados. Generalmente existe una línea de demarcación entre el tejido normal y el afectado. Las áreas afectadas se observan de un color púrpura y de consistencia firme; puede estar presente el edema interlobular. Las vías aéreas pueden presentar estrias de sangre, exudado fibrinoso y los nódulos linfáticos mediastínicos y bronquiolares pueden estar agrandados (Brown *et al.*, 1993; Easterday y Van Reeth, 1999; Taylor, 1999b).

En casos severos pueden haber pleuritis fibrinosa (Van Reeth y Guan, 2000). Las lesiones bajo condiciones naturales frecuentemente están complicadas o enmascaradas por infecciones intercurrentes especialmente de bacterias (Brown *et al.*, 1993). En Quebec, Canadá reportan un caso de neumonía necrotizante y proliferativa severa (PNP) causado por el VIP tipo A. Las lesiones reportadas fueron la consolidación confluyente de los lóbulos craneal y medio y de la mitad hacia abajo de los lóbulos caudales. Los lóbulos no colapsan y la coloración de rojo a gris, el edema interlobular fue común, los investigadores concluyen que el virus causal H1N1 porcino, tiene una relación lejana a la cepa contemporánea H1N1 que circula en los Estados Unidos de Norteamérica (Zhou *et al.*, 1999; Janke, 2000).

Bikour *et al.* (1994), describen al virus aislado de casos de PNP en Quebec, como una nueva cepa aislada en la población porcina de Canadá, la cual se encuentra relacionada con A/Sw/Hong Kong/76 H3N2 del virus de influenza.

Se han observado diferencias en la severidad de las lesiones con las diferentes variantes del VIP que circulan en el Reino Unido, la Cepa H3N2 y la clásica H1N1, circulan desde 1986 produciendo lesiones macroscópicas mínimas y una neumonía intersticial muy ligera, tanto en casos de infección natural como experimental. Por otro lado, la variante más reciente de H1N1, produce lesiones macroscópicas más marcadas y cambios histológicos más severos incluyendo la necrosis severa del epitelio bronquial, exudación alveolar e infiltración neutrofílica (Brown *et al.*, 1993), estos hallazgos se han confirmado experimentalmente.

LESIONES MICROSCÓPICAS:

Al igual que las lesiones macroscópicas, las lesiones microscópicas en casos no complicados de infecciones con cepas del VIP, son consistentes con la neumonía viral. Las lesiones microscópicas que causa el VIP consisten en una degeneración y necrosis diseminada del epitelio bronquial y bronquiolar, el lumen de bronquios, bronquiolos y alvéolos se encuentran llenos de un exudado que contiene células descamadas y neutrófilos y en periodos tardíos se observan monocitos. Además se observa hiperemia variable con dilatación de capilares e infiltración del septo alveolar con linfocitos, histiocitos y células plasmáticas, la atelectasia alveolar diseminada, la neumonía intersticial y el enfisema acompañan a las lesiones. Existe también infiltración celular perivascular y peribronquial (Brown *et al.*, 1993; Taylor, 1999b).

La lesión histopatológica de la PNP consiste en lesión exudativa caracterizada porque en el lumen alveolar se encuentra un edema rico en proteínas y macrófagos grandes; la bronquiolitis necrotizante principalmente afecta a los bronquiolos terminales; se observan coágulos de células necróticas en el conducto alveolar y alveolo y una marcada lesión proliferativa por la multiplicación de neumocitos II, responsable de la epitelización alveolar y de la formación de la membrana hialina en el lumen del conducto alveolar terminal (Easterday y Van Reeth, 1999).

2.5.7 DIAGNÓSTICO:

El aislamiento viral y la detección de anticuerpos específicos son necesarios para el diagnóstico de VIP (Easterday y Van Reeth, 1999; Taylor, 1999b). Se sospecha de la presencia de la enfermedad cuando ocurre un brote explosivo de signos respiratorios, involucrando a muchos o todos los animales de la granja, especialmente en los meses más fríos (Taylor, 1999b).

La mejor muestra para intentar el aislamiento viral en animales vivos es el moco nasal, el cual se obtiene por medio de un hisopo de la cavidad nasal o en el caso de animales pequeños, donde se dificulta obtener la muestra por esta vía, la alternativa podría ser el moco faríngeo. Es más probable de encontrar el VIP en la secreción nasal o faríngea durante el período febril y no después, cuando este ha terminado (Easterday y Van Reeth, 1999; Taylor, 1999b).

El hisopo es colocado en medio de transporte como por ejemplo glicerol salino. Es muy importante evitar que la muestra se deshidrate y mantenerla refrigerada (4°C) durante el tiempo que dure el transporte al laboratorio. El virus no es estable a -20°C. Se recomienda la filtración de la muestra para retener las pequeñas cantidades de contaminantes que pudieran encontrarse en el medio de transporte. El crecimiento de hongos y bacterias se pueden controlar agregándole al medio de transporte antimicrobianos apropiados (Rockborn *et al.*, 1990; Easterday y Van Reeth, 1999).

El virus también se puede aislar del parénquima pulmonar de cerdos que murieron durante el brote agudo de la enfermedad o de los que son sacrificados y presentan la signología clásica de la afección. El tejido del pulmón debe de ser manejado de igual forma que los hisopos con el exudado (Ramírez, 1981; Easterday y Van Reeth, 1999).

Embriones de pollo de 10 días de edad representan un medio de cultivo disponible y económico para el aislamiento del VIP. Los huevos inoculados se incuban a 37°C. Debido a que generalmente el VIP no mata al embrión, el líquido de la cavidad alantoidea se cosecha a las 72 horas posteriores a la inoculación y a este líquido se le realiza la prueba de hemaglutinación utilizando eritrocitos de gallina debido a que el virus tiene la propiedad de aglutinar este tipo de células (Rockborn *et al.*, 1990).

El subtipo de hemaglutinina se determina por medio de la prueba de inhibición de la hemaglutinación y el subtipo de neuraminidasa se determina por medio de la prueba de inhibición de la neuraminidasa. El sistema de cultivo celular es más usado para el aislamiento de especímenes de origen humano y la línea celular que se usa es la MDCK (Madin-Darby Canine Kidney) o células primarias de riñón porcino (Janke, 2001).

El diagnóstico serológico del VIP requiere del uso de dos muestras de suero, una de ellas tomadas en la fase aguda de la enfermedad y la otra de 3 a 4 semanas más tarde, para

demostrar el incremento de anticuerpos. Con el antígeno apropiado la prueba más utilizada es la inhibición de la hemaglutinación (HI). Es posible que la prueba diagnóstica detecte aglutininas no específicas que se encuentran en el suero, interfiriendo con los resultados. Esta prueba es relativamente simple y puede ser realizada en forma rápida (Rockborn *et al.*, 1990; Janke, 2001).

La habilidad de la prueba es detectar anticuerpos contra la partícula viral de campo, que induce la formación de anticuerpos, depende de la relación antigénica de la cepa de campo y la cepa utilizada como antígeno en la prueba. Sueros con títulos de 1:40 o menores, pueden incluir reacciones no específicas; títulos de 1:80 o mayores son considerados positivos y específicos. (Rockborn *et al.*, 1990; Janke, 2001).

Otros métodos para detectar la presencia del antígeno viral o de anticuerpos específicos es la prueba de inmunofluorescencia directa, la cual se realiza sobre el tejido pulmonar, la técnica de la inmunofluorescencia indirecta aplicada a las células epiteliales nasales y la inmunofluorescencia microscópica aplicada al contenido del lavado bronquioalveolar. Son también de utilidad, la detección inmunohistoquímica en tejido fijado, la prueba de ELISA y la prueba de Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) (Janke, 2001). Actualmente se pueden conseguir pruebas comerciales de ELISA las cuales diferencian entre los subtipos H1N1 y H3N2.

También se usa la prueba de cultivo celular rápida usando tinción de inmunoperoxidasa y una prueba de inmunotransferencia, la cual detecta rápidamente el antígeno A del virus de influenza en muestras clínicas (Janke, 2001). Debido al gran número de reactivos específicos necesarios para la identificación del VIP, la caracterización del virus involucrado generalmente es realizada por un centro de referencia (Easterday y Van Reeth, 1999).

Generalmente es complicado el diagnóstico positivo de la enfermedad por medios virológicos y serológicos de cerdos lactantes o destetados, provenientes de marranas con anticuerpos contra el virus. Los anticuerpos maternos persisten por 2 a 4 meses dependiendo el nivel inicial. Se ha demostrado que lechones lactantes con anticuerpos maternos pueden infectarse y eliminar el virus. La proporción de recuperación del virus y de la severidad de los signos de la enfermedad es inversamente proporcional al nivel de anticuerpos maternos (Easterday y Van Reeth, 1999).

El nivel de anticuerpos en la fase convaleciente de lechones afectados, debe de ser más alta que en la fase aguda, debido a que la producción activa de anticuerpos, se encuentra inhibida por los anticuerpos maternos. Después de que los anticuerpos maternos decrecen, los cerdos quedan desprotegidos y se pueden infectar, hay eliminación viral y signos clínicos de la enfermedad y se da una respuesta primaria típica (Taylor, 1999b).

2.5.8 TRATAMIENTO

Debido a que es una infección viral, en medicina veterinaria no existe una terapia específica y económicamente viable contra esta enfermedad. Es importante proporcionar una atención cuidadosa a los lechones en la maternidad, mantenerlos en un medio confortable, seco y limpio. No someter a los animales a factores estresantes innecesarios, como el movimiento o transporte durante la fase aguda de la enfermedad (Easterday y Van Reeth, 1999).

El agua limpia y fresca deberá estar disponible todo el tiempo, porque muchos animales presentan fiebre. Existe una disminución muy marcada del apetito durante el curso de la enfermedad, pero este retorna rápidamente conforme se recuperan los animales. Los expectorantes son comúnmente utilizados como un tratamiento de la pira, administrándose por medio del agua de bebida (Easterday y Van Reeth, 1999; Taylor, 1999b).

Los antibióticos y otros tratamientos antimicrobianos se han utilizado básicamente para el control de agentes secundarios, especialmente bacterias, los cuales se administran por medio del alimento en forma de premezclas. Algunos animales en forma individual pueden requerir un soporte adicional contra agentes bacterianos en casos severos y la administración deberá de realizarse de forma parenteral (Pensaert, 1995; Stevenson, 1998).

La Amantadina (1-adamantanamina) ha demostrado su efectividad en reducir la respuesta febril y la excreción viral en cerdos infectados experimentalmente. Sin embargo no existe un tratamiento antiviral registrado para ser usado contra el VIP (Easterday y Van Reeth, 1999).

2.5.9 PREVENCIÓN Y CONTROL:

Medidas generales de bioseguridad previenen que animales susceptibles contraigan la enfermedad al estar en contacto con animales infectados, es importante prevenir la entrada del VIP a una explotación porcina. Debido a que se conoce que el virus se transfiere entre especies, las medidas de bioseguridad deben de incluir, prevenir el contacto con otras especies, especialmente las aviares. También es importante que si se sospecha que los humanos se encuentran infectados con el virus, no se deberá permitir el contacto con los cerdos (Easterday y Van Reeth, 1999).

Los animales recuperados del VIP desarrollan anticuerpos que inhiben la hemaglutinación y la neuraminidasa, virus neutralizantes que activan el complemento. El grado y duración de la resistencia a subsecuentes infecciones en cerdos recuperados, no se ha determinado en forma precisa. Niveles importantes de anticuerpos se pueden detectar hasta los 6 meses posteriores a la infección. Como ocurren con muchas otras infecciones existe una variación considerable en la respuesta a la producción de anticuerpos de cerdos individuales seguido a la exposición viral (Pensaert, 1995; Larsen *et al.*, 2000).

Se han desarrollado vacunas con virus inactivados las cuales se han probado por diferentes investigadores. Existe variación considerable en la respuesta a la producción de anticuerpos y en la protección después de la vacunación. En USA existe una vacuna registrada, la MaxiVac-FLU para prevenir el VIP. Es una vacuna preparada con agua y aceite y contiene una cepa del virus H1N1 inespecífica la cual fue desarrollada para la protección de lechones destetados y reproductores contra el VIP. Es una vacuna eficaz y segura para la prevención de la enfermedad clínica causada por el VIP (Easterday y Van Reeth, 1999).

En Europa la vacunación contra el VIP es una práctica común. Vacunas inactivadas con virus completo y vacunas producidas con subunidades, obtenidas de la partícula viral por tratamiento con detergente, se encuentran disponibles en el mercado. Estas vacunas contienen cepas del virus del VIP de origen humano: el componente H1N1 y la cepa prototipo A/New Jersey/1/76, confieren un alto grado de protección contra las cepas H1N1 aviares que comúnmente circulan dentro de la población porcina de Europa (Van Reeth y Guan, 2000). Para el componente H3N2 debe de ser cuidadosamente seleccionada la cepa incluida en la

vacuna, para que confiera la mejor protección, debido a que circulan diversas cepas H3N2 dentro de la población porcina (Easterday y Van Reeth, 1999).

Las vacunas contra VIP se administran intramuscularmente y la protección se basa en la producción de anticuerpos que inhiben la hemaglutinación en el suero. El esquema más aceptado son dos aplicaciones de la vacuna con intervalo de 3 semanas. Bajo condiciones experimentales una vacunación a cerdos de engorda con vacunas monovalentes de la cepa A/New Jersey/1/76(H1N1) y de la cepa A/Port Chalmers/1/73/(H3N2) resulta en una protección clínica y reduce la replicación del virus en el tejido pulmonar al momento del desafío. Dos dosis de la vacuna con la cepa H1N1, con intervalo de un mes induce una protección completa contra la infección (Pensaert, 1995).

Existen resultados contradictorios en relación con los beneficios económicos de la vacunación contra VIP en condiciones de campo. En Bélgica la vacunación de los cerdos de engorda se considera eficiente en costos particularmente en el invierno, cuando la infección es más dañina (Pensaert, 1995; Easterday y Van Reeth, 1999).

Se debe de tener cuidado de no aplicar la vacuna antes de la semana 10 de edad, para evitar la interferencia con la inmunidad materna. Una vacuna por vía intradérmica (Pigjet) se ha registrado recientemente en Europa para los cerdos de engorda. La vacunación por esta vía no es práctica y la eficacia en el campo debe ser probada (Pensaert, 1995; Easterday y Van Reeth, 1999).

En vista de la extensa circulación del VIP subtipo H1N1 en la población de cerdos y la conservación antigénica del mismo, la vacunación deberá de ser un componente valioso para los programas de control del VIP (Pensaert, 1995; Easterday y Van Reeth, 1999; Van Reeth and Guan, 2000).

2.6 NEUMONÍA MICOPLASMÁTICA

La neumonía micoplasmática del cerdo o neumonía enzootica es causada por *Mycoplasma hyopneumoniae*, se ha reconocido por cerca de cien años, pero se describió en un principio como una neumonía de origen viral debido a que el agente no podía ser separado por la filtración utilizada para bacterias. El agente etiológico fue finalmente identificado y caracterizado como un micoplasma en los años 60's por investigadores de Estados Unidos de Norteamérica y del Reino Unido. Tiene una distribución mundial y se encuentra presente en la mayoría de las granjas porcinas. En años recientes la importancia de esta enfermedad se ha incrementado debido a que interactúa con el virus del Síndrome Respiratorio y Reproductivo Porcino y otros agentes (Stevenson, 1998; Ross, 1999).

2. 6. 1 CARACTERÍSTICAS DEL AGENTE:

Mycoplasma hyopneumoniae es uno de los microorganismos más exigentes del género, por observaciones con microscopía electrónica se aprecia la presencia de pequeños filamentos de la cápsula en un medio que contenga suero de equino. Es un agente pequeño que no invade los tejidos y se le considera un parásito de superficie. Se reproduce por fisión binaria igual que las bacterias. Entre sus características morfológicas esta que no posee pared celular, siendo

esto lo que explica por que no es afectado por algunos antimicrobianos cuyo mecanismo de acción interfiere con la síntesis de la pared celular (Janke, 1997).

Es un microorganismo difícil de cultivar. Su crecimiento en medios de cultivo es muy lento y poco práctico para el diagnóstico rutinario, en ocasiones requiere hasta 30 días de incubación. Necesita medios líquidos enriquecidos con suero y una atmósfera con 5% de dióxido de carbono. Son dependientes de esteroides en forma de colesterol el cual es incorporado a su membrana plasmática (Joklik *et al.*, 1983; Ross, 1999).

Libera algunas substancias biológicamente activas tales como mitógenos, receptores de nutrientes, proteasas, adhesinas e intermediarios metabólicos, estos productos destruyen las células epiteliales y los cilios. Presenta pleomorfismo y se tiñe con Giemsa observándose cocobacilos de 0.1-0.2 micrómetros. El *Mycoplasma hyopneumoniae* en forma directa posee un efecto estimulador no específico de la mitogénesis en los linfocitos, lo cual contribuye a la proliferación de estas células alrededor de los bronquiolos y vasos en áreas afectadas del pulmón (Janke, 1997; Stevenson, 1998)

La parálisis de los mecanismos de limpieza mucociliar como consecuencia del efecto del *Mycoplasma hyopneumoniae*, causa la retención de secreciones inflamatorias y restos celulares en las partes bajas de las vías respiratorias y alvéolos, lo cual provee condiciones favorables para infecciones bacterianas secundarias, exacerbando los problemas neumónicos, y prolongando la recuperación del paciente. La infección no necesariamente resulta como enfermedad clínica, convencionalmente el microorganismo puede superar la acción de los linfocitos, puede unirse a inmunoglobulinas no específicas y elaborar proteasas capaces de destruir la inmunoglobulina IgA (Janke, 1997; Stevenson, 1998; Ross, 1999).

Cuando animales susceptibles, son expuestos a un número suficiente de organismos por un período prolongado, la enfermedad se manifiesta. El período de incubación es de 10 a 16 días pudiendo algunas veces ser mayor, los animales presentan tos persistente por varias semanas y es notoria la disminución del consumo de alimento. En infecciones no complicadas, los cerdos recuperan de nuevo el apetito y el daño del sistema respiratorio es leve. Cuando microorganismos secundarios complican el problema, los animales se observan inapetentes, presentan fiebre, disnea e inclusive pueden morir (Stevenson, 1998; Taylor, 1999).

Al igual que en la signología clínica, las lesiones macroscópicas se inician lentamente, pero pueden ser detectadas en los siete días posteriores a la infección. El mayor porcentaje de lesiones se observa alrededor de la segunda o tercera semana de vida. Esta es la fase activa de la proliferación del organismo, con la consiguiente estimulación de la respuesta inflamatoria del pulmón (Janke, 1997; Stevenson 1998).

2. 6. 2 EPIDEMIOLOGÍA:

Mycoplasma hyopneumoniae es un organismo de comportamiento ambiguo dentro de una población porcina. La infección no necesariamente resulta en la enfermedad clínica o en un comportamiento productivo disminuido, es importante identificar los factores que predisponen a que se presente la enfermedad y ocurra la interacción con otras agentes

presentes en la piara, lo cual hace que se exacerbe la signología de la misma (Halbur, 1997; Stevenson, 1998).

Mycoplasma hyopneumoniae (*M. hyopneumoniae*) esta presente en forma subclínica en las marranas, primerizas las cuales actúan como fuente de infección, al momento del parto, hacia los productos. La transmisión ocurre por contacto directo entre cerdos infectados y susceptibles por medio de secreciones de las vías respiratorias o por aerosoles al toser. El organismo reside en la cavidad nasal, traquea, bronquios, y bronquiolos, entre los cilios (Jänke, 1997).

De esta forma el *Mycoplasma hyopneumoniae* persiste por períodos largos en las vías respiratorias. No es eliminado por el movimiento mucociliar y tampoco existe una respuesta inmunológica adecuada para que sea eliminado. Con el nivel bajo de infección, el microorganismo es difícil de detectar y animales aparentemente no infectados son introducidos a poblaciones libres de este agente. La colonización severa da como resultado una cilioestasis y una pérdida de cilios de la superficie epitelial. La irritación estimulada por la proliferación del microorganismo sobre el epitelio de las vías aéreas da como resultado la presencia de tos, que es el signo característico de esta infección. *M. hyopneumoniae* es claramente un patógeno primario en el CRP (Morris *et al.*, 1995; Clark, 1997; Thacker *et al.*, 1999).

La infección por *M. hyopneumoniae* puede ocurrir en cualquier momento del proceso de producción, pero generalmente se da entre la semana 6 a la 8, aunque no necesariamente ocurre la manifestación clínica. Los signos clínicos de *M. hyopneumoniae* se observan más comúnmente en cerdos localizados en las etapas de crecimiento y finalización (Morris *et al.*, 1995). En estudios realizados recientemente, se demostró que el riesgo de presentar tos y lesiones neumónicas se incrementa con la edad y que la seroconversión es más probable que ocurra después de los tres meses de edad (12 semanas) coincidiendo con la transferencia de animales a las áreas de crecimiento y finalización.

M. hyopneumoniae se trasmite en forma primaria por contacto directo con cerdos infectados, pero la transmisión por vía aerógena puede ocurrir (Ross, 1999). La transmisión, marrana-lechón, contribuye con la diseminación del *M. hyopneumoniae* dentro de la granja, sin embargo esta ruta de infección, puede jugar un papel relativamente menor en mantener la infección en granjas donde el problema se encuentre crónico con sistemas de producción de flujo continuo (Clark *et al.*, 1991).

Se sabe que las marranas jóvenes (primero—tercer parto) eliminan mayor cantidad del agente en relación con las marranas adultas (Clark *et al.*, 1991b; Ross, 1999). En granjas infectadas donde se utiliza el manejo de todo dentro todo fuera se reduce la incidencia de problemas respiratorios causados por *M. hyopneumoniae* (Clark *et al.*, 1991b).

Es difícil determinar la edad exacta, en que los animales se infectan con *M. hyopneumoniae* bajo condiciones de campo. La distribución mundial de *M. hyopneumoniae*, sugiere que su transmisión es muy eficiente, de cerdos infectados a cerdos susceptibles, sin embargo lo que no está claro, son las condiciones necesarias para que se lleve a cabo esta transmisión. Se reporta que el período de incubación del *M. hyopneumoniae* es muy variable, de 2 a 6 semanas o más. Lo que sugiere que la eliminación del agente no se da en forma continua, o que la dosis infectante inicial es importante, así como el estado inmunológico del animal expuesto (Pijoan y Ruiz, 2001).

Por otro lado, con el uso de la prueba de PCR, se demostró, que una gran proporción de animales se encuentran infectados, antes de que se observe la diseminación rápida del organismo dentro de la piara. Esto sugiere, que una cantidad mínima del agente este presente, antes de que ocurra la transmisión rápida. Esto explica en parte las diferencias epidemiológicas observadas, en los diversos sistemas de producción (Pijoan y Ruiz, 2001).

En granjas convencionales con sistema de producción en un solo sitio y con flujo continuo, la transmisión ocurre de forma muy rápida y los signos clínicos se observan en la fase de destete. Mientras que en los sistemas con producción en tres sitios y con alto grado sanitario, en donde los cerdos son destetados y segregados, los signos se observan muy retrasados y comúnmente se observan hasta las últimas semanas del finalizado (Pijoan y Ruiz, 2001).

2. 6. 3 SIGNOS CLÍNICOS Y PATOGÉNESIS:

En la expresión clínica de la enfermedad, se ha descrito tos no productiva que inicia alrededor del mes después de que los cerdos son alojados dentro de los edificios de finalización, en sistemas de producción de flujo continuo. La tos persiste en cerdos individuales, por un período de 4 a 6 semanas y va disminuyendo en forma gradual. La tos puede aparecer y persistir en cerdos diferentes, los cuales se infectan y se recuperan durante todo el período de crecimiento (Ross, 1999).

Si no existen infecciones secundarias, la enfermedad tiende a disminuir sin afectar el comportamiento productivo, ni causar mortalidad (Clark, 1999). Sin embargo la infección con *M. hyopneumoniae*, generalmente se acompaña de patógenos secundarios siendo, *P. multocida* y otras infecciones bacterianas que colonizan y causan daños más severos a las vías aerógenas y más a nivel pulmonar. (Stevenson, 1998, Taylor, 1999).

A la infección de *M. hyopneumoniae* asociada con *P. multocida* generalmente se le denomina como neumonía enzoótica o neumonía micoplásmica, los cerdos presentan fiebre, disnea y pueden morir si no son tratados con antibióticos apropiados. *M. hyopneumoniae* coloniza la mucosa respiratoria de la cavidad nasal y de las vías aéreas al adherirse a los cilios, causando aglutinación y pérdida de los mismos, así como una secreción excesiva de moco, por las células caliciformes (de goblet). Esto resulta en una disfunción del aparato mucociliar y en una reducción en la capacidad de la limpieza pulmonar, de las bacterias inhaladas (Stevenson, 1998).

La inflamación se desarrolla alrededor de las vías afectadas, resultando en una bronconeumonía catarral característica, que afecta hasta el 70 % del pulmón. Debido a la reducción de la eliminación bacteriana pulmonar, los patógenos secundarios, comúnmente se multiplican en el parénquima pulmonar causando una bronconeumonía purulenta (Stevenson, 1998; Ross, 1999; Taylor, 1999).

2. 6. 4. DIAGNÓSTICO

El desarrollo de programas de producción y control pueden ser inapropiados o incorrectos si se basan solamente en la detección del organismo por cultivo o por la detección del antígeno por medio de pruebas indirectas. Ejemplo de estas son las pruebas con anticuerpos fluorescentes (AF), inmunohistoquímica, reacción en cadena de la polimerasa

(PCR) o detección de anticuerpos en suero. Un diagnóstico preciso, debe involucrar el uso combinado de las técnicas descritas anteriormente, aunado con una evaluación clínica de los cerdos y la demostración de las lesiones macro y microscópicas típicas de la infección, en animales que murieron o se sacrificaron (Halbur, 1997).

Existen en la actualidad pruebas serológicas con un alto nivel de sensibilidad y especificidad, que pueden ser usadas para un diagnóstico preciso (Halbur, 1997; Cornaglia y Lallier, 1999). El uso de pruebas serológicas con alta sensibilidad y especificidad, tales como el ELISA pueden proveer una estimación más real de la fase de producción o la edad, en la cual es más probable que ocurra la infección de *M. hyopneumoniae* (Morris *et al.*, 1995; Cornaglia y Lallier, 1999).

Es importante señalar que los signos de neumonía se observan de 6 a 8 semanas antes, de que se pueda detectar la presencia de anticuerpos IgG, por la prueba de ELISA. Se demuestra con esto, que la respuesta de IgG es tardía, debido a que el organismo es pobremente invasivo, por tal motivo, los esquemas de medicación y vacunación, se deben realizar 6 a 8 semanas antes de que ocurra la seroconversión (Janke, 1997; Halbur, 1997).

Existen dos tipos de ELISA, la de bloqueo o competitiva y la indirecta Tween 20. La ELISA de bloqueo es altamente sensible (98%) y moderadamente específica (93%). La indirecta detecta anticuerpos a los 20 días posteriores a la infección y ELISA de bloqueo los detecta a los 40 días. La serología que utiliza la prueba de Fijación de Complemento (FC), presenta el inconveniente de que existe reacción cruzada con *M. flocculare* y *M. hyorhinis*, esta detecta anticuerpos IgM e IgG, el IgM es más eficiente en fijar el complemento. Cuando esta prueba da títulos altos, sugiere que niveles altos de IgM se encuentran presentes, lo cual coincide con una exposición reciente (Halbur, 1997). La pregunta es ¿la prueba es capaz de detectar animales infectados con tres meses de anterioridad?. Algunos cerdos infectados dan resultados negativos cuando se utiliza la prueba de FC. Los títulos se detectan de 2 a 4 semanas posinfección y persisten por 13 a 15 semanas. Las pruebas de ELISA son más específicas y detectan anticuerpos más tempranamente (Stevenson, 1999).

2. 6. 5. CONTROL Y PREVENCIÓN

El método propuesto para controlar al *Mycoplasma hyopneumoniae* es la despoblación y repoblación parcial, incluyendo cambios en el flujo de producción, combinado con medicación antibiótica estratégica. Este método es una alternativa a la repoblación con animales libres de patógenos específicos (SPF) y es menos costoso reduce los costos de producción y conserva el potencial genético de los animales reproductores (Clark, 1997; Baekbo, 1999).

Se han desarrollado dos tecnologías para controlar la neumonía micoplasmática y muchos productores las han puesto en práctica. La primera es la denominada todo dentro-todo fuera. La segunda metodología fue, la producción en sitios múltiples, la cual incorpora principios del destete temprano medicado, en unidades con una población animal elevada (2000 marranas). Ambas deben tener buen manejo general de la enfermedad, evitando de esta forma el costo de la despoblación-repoblación. Estas dos tecnologías reducen o eliminan la expresión clínica de la neumonía micoplasmática, observándose en un mejor comportamiento productivo de los animales (Clark, 1997 y 1999).

Con las nuevas técnicas de manejo como el destete temprano medicado, todo dentro todo fuera, ISOWEN, y destete temprano segregado (SEW), la enfermedad se ha eliminado solamente a nivel de investigación realizada en universidades. El uso de estas técnicas en situaciones comerciales no siempre ha sido útil en el control de la neumonía micoplasmática (Clark, 1999). Actualmente *M. hyopneumoniae* se ha convertido en el principal agente etiológico primario del Complejo de Enfermedades Respiratorias Porcinas (PRDC).

Se ha observado en forma frecuente que cuando los productores intentan el uso de las nuevas técnicas, se enfrentan con la necesidad del uso de la serología y de estrategias de vacunación (Clark, 1999; Ross, 1999).

En poblaciones infectadas en forma crónica, se ha propuesto el uso de programas de vacunación para disminuir la signología clínica de la enfermedad y obtener mejores indicadores de producción (Thacker, 1997; Thacker *et al.*, 1999). La vacunación contra micoplasma reduce la severidad del daño pulmonar, aunque no evita la infección. La vacunación disminuye el efecto del virus de PRRS para inducir neumonía junto o en sinergia con *Mycoplasma hyopneumoniae* (Thacker, 1997; Thacker *et al.*, 1999).

En áreas porcinas donde se ha realizado la vacunación contra *Mycoplasma hyopneumoniae* se ha demostrado una reducción en la prevalencia de neumonía en los cerdos, aunado a un incremento en la ganancia diaria de peso. Es importante recordar que *Mycoplasma hyopneumoniae* emplea diversos métodos para evadir la respuesta de los mecanismos de defensa del hospedador tanto innatos o naturales como de los inducidos por vacunación. (Thacker *et al.*, 1999).

Los filamentos que lo recubren, así como la cápsula, parecen ser importantes para protegerlo y no ser destruido por las células del sistema inmune, tales como macrófagos y neutrófilos (Janke, 1997). Evita ser reconocido por las células de memoria, variando la presentación de proteínas o lipoproteínas de superficie o modificando su conformación. Otro mecanismo utilizado para evitar su destrucción es que evita que los linfocitos respondan a sustancias las cuales normalmente los activan (inmunosupresión).

La utilización de la inmunización activa, para controlar las enfermedades infecciosas, depende de numerosos factores, incluyendo la antigenicidad del agente, la edad y estatus inmune del hospedero y el medio ambiente en el cual se encuentra. Los microorganismos extracelulares como el *Mycoplasma hyopneumoniae*, inducen una respuesta inmune humoral localizada, los polisacáridos que recubren la superficie bacteriana estimulan a los linfocitos B, provocando una potente respuesta inicial de anticuerpos de la clase IgM, seguida por IgA e IgG. (Thacker, 1997).

Debido a la característica del *Mycoplasma hyopneumoniae* de no ser invasivo y de localizarse a nivel de epitelio, la inducción de IgA secretoria puede jugar un papel importante contra la infección, la colonización y el desarrollo subsecuente de la enfermedad clínica. La vacuna induce una respuesta inmune mediada por células (IMC), la cual frecuentemente es importante en controlar y eliminar patógenos (Thacker, 1997).

La respuesta IMC responde produciendo linfocitos que destruyen directamente al agente o con la ayuda de anticuerpos, los cuales son producidos por los linfocitos B. La estimulación de estas armas por parte del sistema inmune ayuda a que responda en forma más rápida y específica cuando por segunda vez se enfrenta al mismo microorganismo.

Las vacunas contra *Mycoplasma hyopneumoniae* son por lo general preparaciones inactivadas del mismo, las cuales contiene membranas y al micoplasma inactivado; la

vacunación contra *Mycoplasma hyopneumoniae* induce inmunidad protectora bajo condiciones experimentales; sin embargo la protección contra la neumonía es generalmente incompleta (Thacker, 1997).

La vacunación contra *Mycoplasma hyopneumoniae* induce la respuesta de anticuerpos séricos, pero provee una protección limitada contra la infección natural y no previene la colonización del pulmón (Thacker, 1997).

2. 7. PLEURONEUMONÍA CONTAGIOSA PORCINA

2. 7. 1. CARACTERÍSTICAS DEL AGENTE

Actinobacillus pleuropneumoniae es el agente causal de la pleuroneumonía contagiosa porcina (PCP), se encuentra ampliamente distribuido en muchos países reportándose en Inglaterra, Argentina, Estados Unidos de Norteamérica, Suiza, Holanda, Dinamarca, Canadá, Australia, Finlandia, Japón, Alemania, Taiwan, Suecia, Bélgica, Francia y México (Ciprián *et al.*, 1990) Es una enfermedad que causa pérdidas severas y frecuentemente causa la muerte de los animales afectados (Taylor, 1999).

Es un cocobacilo fermentativo, anaerobio facultativo, encapsulado, no móvil, gram negativo, bastoncillo pleomórfico en ocasiones con formas filamentosas. Para su crecimiento requiere dinucleótido de nicotinamida adenina (NAD). El crecimiento es pobre, hasta inexistente, a menos que se encuentre en el medio NAD producido por bacterias tales como estafilococos. Las colonias son grises y opacas en agar chocolate, observándose dos tipos de crecimiento: colonias cerosas, duras, que se adhieren al asa y colonias más planas, blandas, más características de las especies del género *Haemophilus* (Ciprián y Mendoza, 1994; Taylor, 1999).

Basado en el requerimiento de NAD para su crecimiento, es posible diferenciar entre el biotipo 1, cepas dependientes de NAD y el biotipo 2, cepas no dependientes de NAD. Existen 12 serotipos de *A. pleuropneumoniae* del biotipo 1 y del biotipo 2 se han propuesto recientemente los serotipos 1 y 2. La especificidad del serotipo se basa en la composición del antígeno polisacárido capsular (PSC) y el lipopolisacárido (LPS) de su membrana externa (Nielsen *et al.*, 1997).

Es característico que presente hemólisis completa. Presenta la reacción de CAMP entre una cohemolisina de *A. pleuropneumoniae* y la toxina beta del estafilococo (Frey y Nicolet, 1990). El único hábitat de *A. pleuropneumoniae* son las vías respiratorias anteriores del cerdo recuperado clínicamente (portadores), pero no es considerado un comensal de la flora normal (Fedorka-Cray *et al.*, 1993; Ciprián y Mendoza, 1994; Stevenson, 1998).

Actinobacillus pleuropneumoniae posee diversos factores de virulencia responsables de las lesiones severas características de la pleuroneumonía y permite a la bacteria sobrevivir *in vivo*. Tiene la capacidad de liberar una o más hemolisinas y se han identificado cuando menos tres diferentes patrones hemolíticos. Se han caracterizado dos hemolisinas diferentes y sus genes han sido clonados. Los productos extracelulares mejor conocidos son las tres citotoxinas denominadas la ApxI, la ApxII y la ApxIII (Stevenson, 1998; Gottschalk, 1999).

La ApxI es una hemolisina potente de 105 a 110 kDa y es producida por los serotipos 1,5, 9,10 y 11. La hemolisina ApxII tiene un peso de 103 a 105 kDa y la producen todas las cepas de referencia con excepción del serotipo 10. La ApxIII es una proteína citotóxica no hemolítica de 120 kDa y se encuentra en los serotipos 2,3,4,6 y 8 (Gottschalk, 1999). La superficie externa de la bacteria está cubierta por un polímero de carbohidrato con carga negativa que es utilizado por la bacteria para protegerse de las defensas del hospedero (Fedorka-Cray *et al.*, 1993; Stevenson, 1998).

Los anticuerpos dirigidos contra la cápsula protegen al animal contra la muerte, pero la protección es inadecuada contra la infección y la enfermedad crónica. La protección proporcionada por las bacterinas es seroespecífica y se le atribuye a los anticuerpos contra la cápsula. La variación de la virulencia que presentan algunos serotipos está relacionada con la composición y estructura de la cápsula. Todas las bacterias gram negativas poseen un lipopolisacárido endotóxico (LPS), semejante al de las enterobacterias, bien caracterizado. Son frecuentes las cepas resistentes contra los antibióticos y la resistencia está relacionada con la presencia de plásmidos (Ciprián y Mendoza, 1994).

Las células y los sobrenadantes de los cultivos de *A. pleuropneumoniae*, son tóxicos para los eritrocitos, macrófagos pulmonares, linfocitos y otras células. La actividad hemolítica en el sobrenadante de los cultivos de *A. pleuropneumoniae* es altamente inestable, es inactivada por calor, formalina y enzimas proteolíticas. Se produce en la mitad de la fase logarítmica de crecimiento bacteriano. Se piensa que la actividad hemolítica extracelular es la responsable de las lesiones hemorrágicas y necróticas características de la pleuroneumonía (Inzana, 1990).

2. 7. 2 EPIDEMIOLOGÍA

Solo los cerdos son susceptibles a *Actinobacillus pleuropneumoniae*. El organismo no se ha aislado de roedores, pájaros o humanos y no persiste en el medio ambiente. Los serotipos de *Actinobacillus pleuropneumoniae* se encuentran geográficamente distribuidos: Los serotipos 1, 5 y 7 son los serotipos más frecuentes en los Estados Unidos de Norteamérica, ocurriendo más frecuentemente en la región intermedia del oeste, los otros serotipos reportados con menor frecuencia son los 3,4,8 y 9 (Fedorka-Cray *et al.*, 1993; Stevenson, 1998).

Los serotipos 1, 2, 3, 5 y 7 son comunes en Canadá y los serotipos 1,2,5,7 y 9 son comunes en Europa (Fedorka-Cray *et al.*, 1993). La virulencia difiere marcadamente entre serotipos y cepas de los serotipos. Generalmente, los serotipos 1,5,9,10 y 11 son los más virulentos. Una característica es que las cepas se han mantenido en áreas geográficas específicas. El daño que pudieran causar al ser introducidos nuevos serotipos a áreas diferentes es un riesgo constante, si no se tiene un buen control en la movilización de animales entre países o regiones. La arquitectura capsular se puede alterar o perderse ocasionando que los aislamientos no puedan ser serotipificados (Fedorka-Cray *et al.*, 1993; Taylor, 1999).

La introducción de la pleuroneumonía porcina, en una granja libre del problema, puede ocurrir por la introducción de animales infectados asintomáticos (Stevenson, 1998). *Actinobacillus pleuropneumoniae* se transmite entre los cerdos por medio de contacto directo o por aerosoles a distancia corta, es frágil y no sobrevive por periodos largos en el medio

ambiente. Las secreciones nasales de cerdos infectados pueden contener 10,000 millones de UFC/ml (Taylor, 1999).

Clínicamente, el patrón de infección irradia desde ciertos corrales con severidad e incidencia que va disminuyendo. Si las condiciones son ideales para que la bacteria se mantenga viable en los aerosoles, se aumenta la velocidad de la diseminación. Índices altos de humedad relativa y vientos calmados, se encuentran asociados con la presentación de brotes agudos. El hacinamiento en climas fríos aumenta la diseminación y ocurrencia de la enfermedad clínica (Fedorka-Cray *et al.*, 1993).

El estrés es un factor importante en la presentación de los brotes. Otros factores serían: cambios bruscos de temperatura, humedad elevada, falta de agua, cambios en la alimentación, hacinamiento, movimiento de los cerdos. Las cepas más virulentas pueden causar neumonía tan solo con inocular 100 bacterias a cerdos susceptibles (Stevenson, 1998), pudiendo causar brotes explosivos de pleuroneumonía caracterizada por una alta mortalidad y morbilidad. Cepas menos virulentas pueden infectar y causar seroconversión en una gran proporción de animales con muy pocos o sin signos clínicos (Taylor, 1999).

Los animales que sobreviven a la enfermedad aguda son portadores de *Actinobacillus pleuropneumoniae*, debido a que permanece en las lesiones necróticas del pulmón, tonsilas y con menor frecuencia en la cavidad nasal. Las infecciones subclínicas son comunes.

Los brotes de PCP se encuentran frecuentemente asociados con prácticas de manejo deficientes, con condiciones climáticas desfavorables o son posteriores a infecciones virales como influenza porcina o virus de la enfermedad de Aujeszky o *Mycoplasma hyopneumoniae* (Taylor, 1999).

Afecta a todas las edades, causando las mayores pérdidas por muerte en animales de 12 a 16 semanas de edad (Wongnarket *et al.*, 1999b). La morbilidad puede ser del 100% con una mortalidad de 20 al 80%. En hatos susceptibles *Actinobacillus pleuropneumoniae* tiene un inicio repentino, diseminándose rápidamente y afectando a cerdos en todos los grupos de edades, incluso a los animales de cría. Algunos cerdos localizados en granjas crónicamente infectadas pueden permanecer seronegativos. Si estos animales son hembras del pie de cría sus lechones no recibirán inmunidad calostrual quedando como cerdos susceptibles dentro de una población infectada. Este grupo de animales formará lo que se conoce como una subpoblación que ayudará a diseminar y preservar el problema (Wongnarket *et al.*, 1999b).

2. 7.3. SIGNOS CLÍNICOS

La infección con *Actinobacillus pleuropneumoniae* puede causar la muerte en las 12 horas posteriores a que el cerdo fue expuesto. Los signos clínicos de la infección incluyen anorexia, fiebre, afección respiratoria severa con cianosis, adoptan la posición de perro sentado, tos, disnea, pudiendo ocurrir la muerte. Es muy común observar en infecciones agudas descargas nasales teñidas con sangre (Fedorka-Cray *et al.*, 1993; Stevenson, 1998). La severidad de la enfermedad esta relacionada con la virulencia de la cepa, cantidad del inculo, nivel de inmunidad protectora de los animales o de la población de la granja, practicas de manejo y condiciones ambientales (Stevenson, 1998; Taylor, 1999).

La enfermedad puede manifestarse en forma hiperaguda, aguda o crónica. En la forma hiperaguda la muerte ocurre dentro de las primero 24 a 36 horas posteriores a la exposición. Dependiendo de la extensión del daño pulmonar y del tiempo en que se inicie la terapia

antimicrobiana, la forma aguda puede progresar de su forma aguda a su forma severa con mortalidad en pocos días o esta puede resolverse en forma crónica. La mortalidad puede ocurrir en animales de 4 semanas de edad, pero generalmente las pérdidas se ven limitadas a la semana 12 a la 16 (Stevenson, 1998).

La mortalidad también puede observarse en animales de mayor edad (20-26 semanas) o en animales con un peso mayor. En muchos casos, cuando la mortalidad esta ocurriendo en animales con un mayor peso, puede ser indicativo de que los cerdos se infectaron a una edad temprana y están reciclando con la enfermedad clínica (Taylor, 1999; Wongnarkpet, *et al.*, 1999b).

2. 7. 4. LESIONES

La lesión macroscópica que se observa es una neumonía fibrino-hemorrágica en ambos pulmones. Al realizar los estudios postmortem muchas veces se observan puentes de fibrina adheridas desde la superficie pleural del pulmón hasta el recubrimiento de la cavidad torácica. Los pulmones presentan por la general una coloración azul oscura y pueden estar afectados extensamente por la neumonía. Al corte, la superficie es friable (curso hiperagudo) o granular (curso agudo y subagudo).

El desarrollo de la lesión progresa 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 en los casos crónicos. El tipo de lesión observada dependerá del tiempo de evolución del problema. En casos donde la muerte ocurre muy rápidamente se observa en traquea y bronquios un exudado mucoso teñido con sangre (Taylor, 1999).

Actinobacillus pleuropneumoniae causa lesiones en los lóbulos cardiacos y diafragmáticos del pulmón cerca del diafragma. La presencia de lesiones más severas en los lóbulos pulmonares caudales es un hallazgo que se reporta frecuentemente en casos donde la infección ocurre en forma natural. Son típicas las zonas circunscritas con una capa de fibrina que recubre la lesión hemorrágica. Esta fibrina puede formar adherencias extensas entre el pulmón y la pared torácica (Ciprián *et al.*, 1990; Taylor, 1999b).

Las lesiones postmortem de los cerdos que sobreviven a la infección no presentan el color rojo de la hemorragia aguda. Se formarán abscesos en el pulmón a medida que las defensas del organismo intenten limitar la infección. Siempre se deberán de palpar los pulmones para detectar la presencia de abscesos internos. Aun en los casos hiperagudos los pulmones pueden estar involucrados severamente (Ciprián *et al.*, 1990; Taylor, 1999).

Puede existir edema intrapleural de color rojizo, e hidropericardio. La pleurobronconeumonía aguda, fibrinógena, necrotizante es la lesión más frecuentemente reportada. Los pulmones afectados presentan infartos con áreas de necrosis extensas y congestión marcada. Los cambios reportados en estudios histopatológicos son una neumonía fibrino hemorrágica necrotizante con pleuritis fibrinosa tendiente al secuestro en casos crónicos (Ciprián *et al.*, 1990; Taylor, 1999).

2. 7. 5. DIAGNÓSTICO

En caso de PCP de curso agudo, el diagnóstico se puede basar en la historia del hato y en la observación de los signos clínicos de un cerdo y de la población, en la respuesta a la terapia y las lesiones macroscópicas encontradas en la necropsia de cerdos que murieron de casos agudos o durante la inspección. El diagnóstico definitivo de la PCP deberá de ser oportuno y rápido. Un cuidadoso examen de los pulmones y la pleura en el momento de la matanza proporciona una buena evidencia para presuponer la existencia de una infección previa (Fenwick, 1990).

El examen postmortem en el cual se observa neumonía con pleuritis es la lesión que confirma la existencia de la enfermedad. Estas lesiones son características aún cuando se den infecciones concurrentes con otros microorganismos existentes en la granja. El examen histopatológico es de poco valor en el diagnóstico de la PCP, pero es de utilidad en la identificación de una infección mixta con *P. multocida*, que se sabe aumenta la severidad de la enfermedad clínica causada por el *Actinobacillus pleuropneumoniae* (Fenwick, 1990).

Para confirmar el diagnóstico clínico y de necropsia, es necesario aislar al agente causal de una lesión característica y es aun más importante que el aislamiento permita identificar al serotipo involucrado facilitando el análisis epidemiológico. Además el aislamiento permite determinar la sensibilidad a los antibióticos, esta información es importante debido a que el número de cepas resistentes continua aumentando, desarrollándose nuevos patrones de resistencia (Fenwick, 1990).

El aislamiento se puede confirmar por medio de la prueba de reacción en cadena de la polimerasa (PCR) o por medio de serología usando anticuerpos monoclonales. También se puede identificar hasta la serovariedad, usando PCR para identificar el gen activador o el que codifica para la producción de la toxina o por medio de la forma convencional usando anticuerpos específicos para cada serovariedad (Taylor, 1999).

La serotipificación de los aislamientos se recomienda para una confirmación rápida de los mismos. Es esencial realizarla cuando se considera a la vacunación como una estrategia de control. Se ha demostrado de la regionalización de las serovariedades, por lo tanto la situación epidemiológica se deberá de evaluar por medio de pruebas serológicas específicas para las serovariedades comunes de la región (Taylor, 1999).

La detección de anticuerpos es de poco valor diagnóstico después de un brote, pero provee una importante herramienta en la investigación epidemiológica. Se han encontrado que un pequeño número de hatos se encuentran infectados simultáneamente con más de un serotipo de *Actinobacillus pleuropneumoniae*. Se podría recurrir a otros métodos para identificar al antígeno presente en el parénquima pulmonar como son la prueba de anticuerpos fluorescentes o la prueba de coagulación (Taylor, 1999).

DIAGNÓSTICO SEROLÓGICO:

Una de las ventajas del uso de la serología es que se realiza en los animales vivos, con o sin signos clínicos, no requiere que los animales sean sacrificados, siendo más rápida y económica. Existen cuatro diferentes categorías de pruebas serológicas para detectar la presencia de anticuerpos circulantes contra *Actinobacillus pleuropneumoniae*. Pruebas de Ensayo Inmunsorbente Ligado a Enzima (ELISA), Fijación de Complemento, Aglutinación y Neütralización de hemolisinas (Ciprián *et al.*, 1990; Gottschalk, 1999). La confiabilidad de las pruebas de ELISA depende de la calidad del antígeno y de los controles utilizados en las pruebas. Es importante que las muestras de sueros se analicen por duplicado debido a que algunas variaciones se han observado especialmente con suero que provienen de marranas. La prueba de fijación de Complemento (FC) es considerada la prueba de referencia, aunque posee una sensibilidad muy baja, animales afectados en forma subclínica presentan muy baja respuesta serológica, o no existe (Fenwick, 1990; Gottschalk, 1999).

La prueba de Fijación de Complemento se realiza en muchos países en forma rutinaria porque determina que granjas se encuentran libres de la enfermedad, sin embargo es una prueba demasiado complicada que requiere de muchos controles, además de que el suero no debe de estar hemolizado y por lo tanto el sangrado del cerdo deberá ser adecuado (Fenwick, 1990; Gottschalk, 1999).

Por otro lado existe la posibilidad de actividad anticomplementaria y precomplementaria en el suero porcino, la cual interfiere en la interpretación de esta prueba (Fenwick, 1990). La prueba de fijación de complemento tiene una alta especificidad pero su sensibilidad es baja (Fedorka-Cray *et al.*, 1993; Stevenson, 1998), la prueba de ELISA tiene una alta sensibilidad pero es de baja especificidad.

El ensayo de neutralización de la hemolisina, se ha desarrollado recientemente, tiene una alta sensibilidad y especificidad, pero no detecta al serotipo 7 que no produce hemolisina. La prueba de neutralización de la hemolisina (HNT) detecta anticuerpos contra la toxina y en consecuencia una infección activa (Gottschalk, 1999). Sin embargo no puede diferenciar entre serotipos y tampoco puede diferenciar anticuerpos producidos por *A. suis* cuando la granja se encuentra infectada y los animales presentan títulos elevados. Granjas infectadas con el serotipo 3, el cual algunas veces produce solo la Apx III (toxina no hemolítica), no pueden ser detectadas cuando se utiliza esta prueba (Gottschalk, 1999).

Se ha probado en Europa una prueba de ELISA en el cual se utiliza la toxina purificada, principalmente para evaluar la respuesta de anticuerpos contra vacunas que contienen toxoides. Esta prueba puede detectar anticuerpos contra las tres toxinas incluyendo la Apx III, sin embargo si da resultados positivos, es difícil saber que serotipos se encuentran involucrados (Gottschalk, 1999).

La reacción cruzada puede ocurrir entre ciertos serotipos en todas las pruebas. El serotipo 8 puede cruzar con los serotipos 3 y 6, el serotipo 9 con el serotipo 1. El serotipo 5 con el serotipo 7 y el serotipo 7 con el serotipo 4 (Fedorka-Cray, *et al.*, 1993; Stevenson, 1998). La serología positiva no es diagnóstico definitivo sin el aislamiento, ya que la infección subclínica de *Actinobacillus pleuropneumoniae* ocurre con seroconversión. De la misma manera, la serología negativa no es diagnóstica ya que los portadores subclínicos crónicos pueden permanecer seronegativos (Gottschalk, 1999).

En México se ha desarrollado un paquete para el diagnóstico serológico de *Actinobacillus pleuropneumoniae* empleando tecnología sencilla y de costo bajo, se le ha llamado "Pleurotest" y consiste en una aglutinación directa en placa, para detectar los anticuerpos contra la cápsula de la bacteria, contenidos en el suero de animales infectados. Es una prueba rápida, pensada en que su realización sea a nivel de campo, por personal no entrenado en técnicas de diagnóstico. Se reporta con una sensibilidad del 86% y una especificidad del 97% (Ciprián *et al.*, 1994).

En piaras infectadas crónicamente, la detección de animales portadores se logra mediante la combinación de serología y aislamiento en medios especializados, a partir de hisopos de tonsilas. Las pruebas serológicas en la cual se detecta anticuerpos contra la toxina y especialmente si estos son neutralizantes, pueden indicar una medida de protección. La determinación de los anticuerpos séricos pueden usarse para establecer los perfiles serológicos de las granjas o para demostrar la presencia de anticuerpos calostrales (Fenwick, 1990; Taylor, 1999).

Ninguna prueba serológica es 100% sensible y específica y principalmente se utilizan para evaluar poblaciones de animales. Para establecer la frecuencia y distribución de un agente infeccioso dentro de la misma y de esta forma tomar decisiones para su control y eventual erradicación (Thrusfield, 1990; Pijoan, 1994).

2. 7. 6. TRATAMIENTO

Actinobacillus pleuropneumoniae es susceptible a la Penicilina, Ampicilina, Amoxicilina, Cefalosporina, Florfenicol, Tetraciclinas, Sulfonamidas, Sulfonamidas con Trimetoprim, Tilmicosina y Gentamicina, las cuales presentan una Concentración Mínima Inhibitoria (IMC) baja. Valores altos de la IMC, se reporta para Estreptomycina, Kanamicina, Espectomicina, Espiramicina y Lincomycina (Taylor, 1999).

La resistencia hacia Ampicilina, Estreptomycina, Sulfonamidas, Tetraciclinas y Cloranfenicol es alarmante, siendo más frecuente en las serovariedades 1, 3, 5, y 7 y rara en otras serovariedades particularmente la serovariedad 2. La resistencia a los antibióticos es mediada por plásmidos (Ciprián *et al.*, 1990; Taylor, 1999).

El antibiótico de primera elección deberá de ser el que presente una IMC baja y con las propiedades farmacocinéticas más satisfactorias. Los betalactámicos (Penicilina, Cefalosporina), Florfenicol, Sulfonamidas con Trimetoprim y algunas Tetraciclinas se consideran con una actividad mayor (Taylor, 1999).

Recientemente se dispone de nuevos productos, como derivados de las Quinolonas (enrofloxacin) o de Cefalosporina semisintéticas, como el Ceptiofur sódico que ha demostrado su efectividad en animales desafiados experimentalmente. Resultados satisfactorios en condiciones de campo se han reportado con Tiamulina combinándola con Espectinomycina. La Tilmicosina se ha utilizado como premezcla en el alimento (Taylor, 1999). Es recomendable realizar un antibiograma de las cepas aisladas de granjas en donde se ha tenido problemas por la resistencia a determinado antibiótico (Taylor, 1999).

La terapia con antibióticos es efectiva en animales afectados clínicamente, solo en las fases iniciales de la enfermedad, siendo este el momento justo para reducir la mortalidad por el uso de los mismos. Los animales pueden quedar dañados de por vida cuando se recuperan. Los antibióticos deben de ser administrados parenteralmente (subcutánea o intramuscular) a una

dosis alta, debido a que los animales enfermos por lo general no están comiendo y el consumo de agua es bajo (Gottschalk, 1998; Taylor, 1999).

Para asegurar la concentración sanguínea del antibiótico la repetición de la inyección se podrá requerir dependiendo de las propiedades farmacocinética del antibiótico usado. La efectividad de la terapia depende principalmente de la detección temprana de la signología clínica y de la instauración terapéutica rápida. El antibiótico se podrá administrar por medio del agua de bebida esta forma se usa principalmente para tratar miembros de grupos afectados los cuales solo toman agua (Gottschalk, 1998).

La medicación en el alimento se recomienda solo si todos los cerdos tienen un consumo normal del mismo y del agua de bebida. La medicación estratégica del agua y alimento se puede usar para grupos que ingresan a zonas o áreas de alto riesgo. Una combinación de ambas formas de medicación en brotes recientes, proporcionó los mejores resultados (Taylor, 1999). Hay que recordar que la terapia antimicrobiana no elimina la infección dentro de la granja. La forma crónica en los pulmones se observa con la presencia de abscesos o la bacteria se encuentra presente por periodos prolongados en tonsilas, siendo estos animales una importante fuente de infección. Animales afectados en forma severa pueden no recuperarse aun después de haber recibido tratamiento, estos animales deberán ser sacrificados (Taylor, 1999).

2. 7. 7. PREVENCIÓN

La prevención y control de la PCP puede ser realizada por diferentes métodos: En granjas libres de la enfermedad debe mantenerse un control estricto de todos los animales que son introducidos, se deberá de manejar animales "centinelas" a los cuales se les realizará la histerectomía y deben de provenir de granjas libres de la enfermedad. Se debe de contar con áreas de cuarentena en las cuales se alojan los animales de reemplazo. Estos deberán de ser muestreados para detectar la presencia de anticuerpos y para el aislamiento de la bacteria antes de autorizar su introducción (Taylor, 1999).

Una vez que la enfermedad ha entrado a la granja, es muy difícil su eliminación. Como prioridad número uno se debe de controlar las pérdidas económicas (mortalidad, enfermedad clínica y subclínica) y se deberán de considerar las opciones de eliminación o control de la enfermedad. La mortalidad se puede controlar tratando casos o grupos de animales con la medicación estratégica ya mencionada (Taylor, 1999).

La enfermedad puede tratarse en sus inicios, en grupos de animales que son introducidos en áreas limpias y mantenerlos como grupos asilados en las áreas de engorda. Si esto no es posible, el control de los factores ambientales como la temperatura, la ventilación y el uso de divisiones sólidas entre corrales, pueden minimizar el desarrollo y la severidad de la enfermedad. Se puede practicar el uso continuo de medicación o por medio de pulsos, pero nunca se debe de usar por periodos prolongados y la sensibilidad del agente contra el antibiótico debe de ser evaluada continuamente (Gottschalk, 1998; Taylor, 1999).

La medicación estratégica debe de realizarse en periodos de riesgo, los cuales se identifican por el examen postmortem rutinario, la inspección clínica y los perfiles de anticuerpos de la granja (Wongnarkpet *et al.*, 1999b). Los métodos generales usados para el control de problemas respiratorios, tales como todo dentro-todo fuera en unidades de engorda,

el destete temprano segregado, el espacio vital y el espacio aire correcto, según peso y edad, reducen considerablemente el riesgo de infección (Taylor, 1999).

Los animales recién adquiridos deben de provenir de granjas libres de infección para evitar introducir nuevas serovariedades o cepas resistentes a los antibióticos. En granjas infectadas crónicamente los animales de nueva adquisición seronegativos, deben de ser vacunados antes de ser introducidos a la granja (Gottschalk, 1998; Taylor, 1999).

Se dispone de una gran variedad de vacunas contra esta enfermedad: las vacunas en donde el agente se encuentra inactivado y las subunitarias. En las vacunas en donde el microorganismo se encuentra inactivado son específicas a la serovariedad, con posible inmunidad cruzada hacia otras serovariedades (Stine *et al.*, 1994), estos productos han tratado de incluir todas las serovariedades presentes en el área (3,6 y 8 en Inglaterra) (Taylor, 1999).

El tipo de adyuvante usado puede influir en la eficacia y algunas vacunas pueden producir lesiones indeseables en el sitio de la inoculación (granulomas). Las vacunas subunitarias se están desarrollando constantemente y contiene varias combinaciones de subunidades tales como toxinas o proteínas de membrana. Una gran variedad de antígenos se han encontrado que son protectivos, incluyendo a las toxinas y la combinación de la toxina Apx y proteínas de membrana. Productos extracelulares de *A. pleuropneumoniae* (Stine, 1994; Taylor, 1999) y antígenos estructurales o funcionales como Proteínas que fijan el hierro. Las vacunas de este tipo generalmente protegen contra todas las serovariedades.

Todas las vacunas convencionalmente usadas se administran por vía parenteral, generalmente se realizan dos aplicaciones que protegen a los cerdos durante su crecimiento. Experimentalmente se ha probado vacunas con bacterias atenuadas, muertas o subunidades de las mismas, las cuales se han administrado por vía oral o por aerosol y han conferido alguna protección (Taylor, 1999).

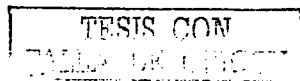
La vacunación generalmente se aplica a las madres para que los anticuerpos pasen a los lechones por medio del calostro y les provean de altos niveles de anticuerpos reduciendo la morbilidad, la mortalidad y el número de tratamientos requeridos, incrementa la ganancia diaria de peso y mejoran la eficiencia en la conversión alimenticia (Wongnarket *et al.*, 1999).

La calidad de la canal se mejora reduciéndose los decomisos de pulmones por la presencia de lesiones de neumonías, disminuyendo los costos por kg de carne producida debido a la reducción de pleuritis y pericarditis. Las vacunas disponibles en años anteriores no siempre eran efectivas bajo condiciones de campo (Taylor, 1999).

La vacunación no siempre previene contra los portadores, pero se ha usado como una ayuda en programas de erradicación. La decisión de vacunar deberá de ser cuidadosamente evaluada. Los costos de la mortalidad no deben de ser los únicos a considerar, porque los efectos sobre los indicadores de productividad se benefician con el uso de la vacuna (Gottschalk, 1998; Taylor, 1999).

El Control de la pleuroneumonía en una granja es complicado porque hay que combinar tratamientos, vacunación y prácticas de manejo. La desinfección debe de ser incluida en un programa de control. El organismo es sensible a gran número de desinfectantes disponibles (Gottschalk, 1998; Taylor, 1999).

El control de la pleuroneumonía en una región o en la punta de la pirámide de la línea de producción de reproductores, involucra un esquema de salud cuyo fin es tener granjas multiplicadoras y núcleo libres de pleuroneumonía. Se tendrían que realizar muestreos



serológicos, muestreos en rastro, exámenes postmortem de casos, control del manejo y del tráfico de animales (pruebas serológicas, cuarentena) (Taylor, 1999).

Para granjas infectadas con *A. pleuropneumoniae* el programa de erradicación es el método de elección pero requiere de una evaluación cuidadosa de las consecuencias económicas. La despoblación y repoblación, con animales que provengan de granjas con certificados libres es el método de elección. Este método es caro y puede influir en la disminución de los indicadores productivos (Gottschalk, 1998).

Se requiere un programa extenso de prueba y evaluación antes de adoptar alguno, pueden ser considerados otros programas de erradicación. Podrían considerarse algunos métodos utilizados en el pasado que incluían un programa de erradicación en áreas de la granja, llevándose a los animales destetados a otra granja, apoyado con un programa de vacunación, medicación, sacrificio y repoblación con reemplazos provenientes de granjas libres. Hatos reproductores con prevalencias bajas de animales positivos (menos de 30%) han utilizado el método de "prueba y remoción" de animales seropositivos bajo medicación. El principio se basa sobre la prueba serológica de las marranas días antes de la fecha de parto y el destete de los lechones a 2 semanas de edad bajo una separación estricta de la fuente potencial de infección. Estos lechones los cuales permanecen seronegativos hasta la semana 12 de vida sirven como autoreemplazos para la granja. Todas las marranas seropositivas son eliminadas sistemáticamente, convirtiéndose el hato reproductor seronegativo en un periodo de tiempo razonable. Este programa puede durar de 6 a 12 meses (Taylor, 1999).

Durante el proceso de eliminación, los animales alojados en la granja se protegen contra la reinfección aplicando antibióticos en el alimento, por ejemplo Trimetoprim más sulfametoxazol 1:20, 250 mg/kg. de alimento. Ciertos reportes sugieren solo el éxito parcial o aun fallas, por la aplicación de estos programas de erradicación y que continuamente se requiere evitar los residuos de antibióticos, así como la resistencia antibacteriana. Todo lo anteriormente expuesto los puede hacer imprácticos (Taylor, 1999).

2. 8. EPIDEMIOLOGÍA SEROLÓGICA

La Epidemiología Serológica consiste en investigar la enfermedad y la infección en las poblaciones, mediante la valoración de elementos presentes en el suero sanguíneo (Thrusfield, 1990). Pueden valorarse diferentes sustancias que componen al suero. Uno de los principales elementos que componen el suero y que se analiza con frecuencia, es la cantidad de anticuerpos. El término "título de anticuerpos" se refiere a la cantidad de inmunoglobulinas presentes en el mismo. Los anticuerpos son una evidencia de la exposición actual, o anterior, a los agentes infecciosos. Su medición se utiliza frecuentemente en Medicina Veterinaria como un método eficaz y barato para detectar dicha exposición.

Conociendo la alta prevalencia de las afecciones respiratorias en las explotaciones porcinas en el ámbito mundial y local y su impacto sobre la producción, se han elaborado diversas estrategias de control y eliminación en granjas o por región. En la actualidad el sistema de producción de sitios múltiples es el que ha demostrado ser más efectivo (Clark, 1997; Backbo, 1999).

No hay que olvidar que para obtener un diagnóstico exacto, este tiene que estar basado en la información recopilada en la historia clínica, la inspección clínica del grupo de animales, los datos de necropsia, la toma de muestras, los análisis de laboratorio, la inspección en-rastro

de animales sacrificados y el análisis de indicadores de producción. Con toda esta información se puede integrar un diagnóstico y tomar decisiones para controlar o minimizar el problema presente (Thrusfield, 1990).

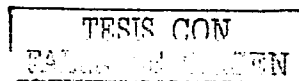
El diagnóstico serológico de la enfermedad se basa en la detección de anticuerpos circulantes en una población, es una de las herramientas de que se dispone para la identificación de una exposición actual o anterior a los agentes infecciosos y establecer el perfil de anticuerpos generado por su presencia. La serología tiene múltiples aplicaciones y los resultados dependen en gran medida de las pruebas utilizadas y sus características. En nuestro país el costo del estudio serológico y la dependencia tecnológica limitan su uso. Cuando se interpretan los resultados en forma aislada no proporciona información suficiente para la toma de decisiones. Como toda herramienta tiene sus limitaciones y debe ser utilizada para el fin que fue creada.

Muchas de las pruebas disponibles para la detección de anticuerpos en nuestro país son demasiado imprecisas. Presentan numerosas reacciones cruzadas, lo cual disminuye su credibilidad por ser utilizadas con confianza. Recientemente se ha elaborado cierto número de pruebas más específicas, lo que permite utilizarlas de mejor manera (Pijoan, 1994).

Existen dos parámetros para medir la eficacia de una prueba serológica: la sensibilidad y la especificidad. La sensibilidad es la capacidad de una prueba serológica de detectar dentro de una población muestreada todos los animales positivos. La especificidad es la capacidad de la prueba de asegurar que todo animal negativo no puede ser atribuido a un animal positivo. La primera es la tasa de aciertos entre los enfermos y la segunda entre los sanos (Navarro, 1988; Thrusfield, 1990).

Estas dos medidas están a menudo enfrentadas, puesto que las pruebas muy sensibles son poca específicas y viceversa (Thrusfield, 1990; Pijoan, 1994; Navarro, 1988; Gardner y Blanchard, 1999). La elección de la prueba depende en parte de la utilización que se hará del resultado. Si interesa que sea menor el número de falsos positivos se deberá de utilizar una prueba que sea más específica y aunque puede ser menos sensible. Cuando inicialmente se estudia una gran proporción de una población, para detectar una enfermedad y eliminar animales positivos con el objetivo de erradicación del patógeno (Ej. detectar la presencia de anticuerpos contra *Mycoplasma hyopneumoniae*) la elección de la prueba se dirige hacia una mayor sensibilidad en detrimento de la especificidad (Gardner y Blanchard, 1999). Esto se explica porque las pruebas iniciales no están encaminadas a obtener un diagnóstico definitivo, sino que su objetivo es detectar la mayor proporción de casos como sea posible, para que posteriormente se utilizara una prueba más específica para detectar a los verdaderos negativos, por lo tanto, obtener una alta proporción de falsos positivos no es tan crítico como obtener una de falsos negativos (Thrusfield, 1990).

La serología puede usarse para establecer el diagnóstico de una infección, su frecuencia y su evolución (perfil). Se puede usar para evaluar la respuesta inmune a la exposición de patógenos en forma natural o por uso de vacunas. Para determinar el momento óptimo de vacunación midiendo la disminución de anticuerpos provenientes de la inmunidad pasiva; la circulación de un agente patógeno dentro de una población y la presencia de enfermedades concomitantes (Navarro, 1988; Thrusfield, 1990; Pijoan, 1994; Gardner y Blanchard, 1999).



III MATERIALES Y MÉTODOS:

3.1 ÁREA DE ESTUDIO

El estudio se realizó en el Estado de Yucatán, localizado entre los paralelos 21° 01' latitud norte y 89°52' longitud oeste. Esta región está clasificada como cálida, subhúmeda, con lluvias en verano (Aw1), con una temperatura media anual de 27°C, con un rango de 7ª a 42°C, una precipitación media anual de 984.4 mm, con un rango de 700-2000 mm y una humedad relativa de 78.2%, los vientos dominantes son de norte a sureste (INEGI, 1997; Duch, 1988) El Estado cuenta con una población estimada de 60,000 vientres, los cuales producen más de 900,000 cerdos, por año siendo esta cifra suficiente para cubrir la demanda local y aun para exportar (Gobierno del estado de Yucatán, 2002).

3.2 DISEÑO DEL ESTUDIO

Se realizó un estudio transversal, en el cual se eligieron 25 granjas porcinas de ciclo completo, de un solo sitio, cuyo destete se realizaba en promedio a los 21 días de edad, los lechones permanecían en el área de destete, de la semana 4, a la 10 de edad, en jaulas elevadas. con capacidad para 16 animales por jaula, en el área de engorda y finalizado los animales se trasladaban a la semana 10 de vida y permanecían hasta la semana 24 de edad, en corrales con piso de cemento y con 16 animales, en promedio por corral, estas diferentes etapas de producción, se encuentran en una misma área geográfica.

Debido a este sistema, la limpieza y desinfección de jaulas y edificios es parcial. Las medidas de higiene del personal, de las instalaciones y del manejo de los animales de reemplazo, se les consideran de bajo nivel sanitario, no se realizaba ningún muestreo a los animales de reemplazos, ni se les alojaba en áreas aisladas antes de su ingreso. En estas granjas durante el periodo de estudio se reportó la presencia del CRP. No se vacunaba contra ninguno de los agentes incluidos en este estudio.

Diferentes dosis y antibióticos se utilizan en las etapas de producción, como medidas profilácticas o curativas, contra los problemas respiratorios, basados en los criterios y experiencias de los médicos veterinarios y/o de los productores. La población de reproductores por granja, variaba de 100, hasta 1000 vientres, en las diferentes áreas, la población, fue proporcional a los mismos.

Las Granjas se seleccionaron por conveniencia y por disponibilidad de los productores. El tamaño de muestra fue de 40 animales (1,000 sueros en total), dividida en 10 animales para cada etapa de producción: destete 5, crecimiento 10, desarrollo 15 y finalización 20 semanas de edad. Con este tamaño de muestra se tuvo un 95% de probabilidad de detectar cuando menos un animal positivo en la granja, cuando la prevalencia de la enfermedad fuera mayor o igual al 8% dentro de la granja y una prevalencia igual o mayor al 25% dentro de cada etapa. Se consideró un promedio de población de 2000 cerdos de engorda (Martin *et al.*, 1987).

La selección de los animales dentro de cada granja se realizó de acuerdo al número de corrales por estrato, buscando representatividad, si la granja contaba con 7 corrales para cada etapa, se muestreó un cerdo por corral y en el último tres, para completar los 10 cerdos por

etapa, si existía un número mayor de corrales (30), se seleccionaron 10 corrales al azar y se muestreó un cerdo por corral.

Se tomaron muestras de sangre sin anticoagulante, para obtener el suero sanguíneo en el cual se buscó la presencia de anticuerpos contra el virus de influenza porcina subtipos H1N1 y H3N2, *Mycoplasma hyopneumoniae* y *Actinobacillus pleuropneumoniae*.

La muestra de sangre se tomó de las venas cavas anteriores por venopunción utilizando un tubo vacutainer con capacidad para 7 ml. y agujas del No. 21 1/2, la sangre se dejó coagular a temperatura ambiente, se separó el coagulo para obtener el suero sanguíneo, que se guardó en viales a -20°C hasta su utilización.

3.3 PRUEBAS DIAGNÓSTICAS:

3.3.1 INFLUENZA PORCINA

Para detectar la presencia de anticuerpos contra el virus de Influenza Porcina se utilizó la prueba de inhibición de la hemaglutinación usando la técnica descrita por Rockborn *et al.* (1990).

Los sueros se inactivaron a 56°C durante 30 minutos para eliminar posibles inhibidores inespecíficos, a 100 microlitros de suero inactivado se le añadieron 200 microlitros de caolín al 25% durante 20 minutos. Para evitar aglutininas inespecíficas se adicionaron 200 microlitros de eritrocitos de ave al 50%, se mezcló y se dejó por 30 minutos a temperatura ambiente, finalmente la mezcla se centrifugó a 800 g durante 10 minutos. Se obtuvo el sobrenadante de cada uno de los sueros y se almacenó a -20°C , la dilución final de los sueros fue de 1:5

A) MULTIPLICACIÓN DEL ANTÍGENO VIRAL

Cepas virales: Los antígenos virales utilizados fueron el A/sw/England/163266/87 (H3N2) y el A/sw/Ia/73(H1N1) los cuales se multiplicaron en el alantoideo de embrión de pollo de 9 a 11 días de edad, el inóculo fue de 0.2 ml por embrión. A las 72 horas postinoculación los embriones se sacrificaron, colocándolos por 3 horas a temperatura de refrigeración. El fluido alantoideo se obtuvo en forma estéril y fue titulado por medio de la prueba de hemaglutinación.

La hemaglutinación se llevó a cabo en una microplaca de 96 pozos, de fondo en "V" haciendo diluciones dobles con 25 microlitros de fluido alantoideo, un buffer de fosfatos pH 7.2 (PBS), a las cuales se le añadieron 25 microlitros de eritrocitos de ave al 1%, la microplaca se dejó a temperatura ambiente durante 30 minutos. El fluido alantoideo de un embrión sin inocular se utilizó como control negativo. Las unidades hemaglutinantes (UHA) correspondieron a la dilución de virus más alta, que mostró aglutinación completa. Este título se interpretó como el recíproco de la dilución del virus en el último pozo que mostró aglutinación. En las pruebas el antígeno viral se utilizó con 8 UHA (Rockborn *et al.* 1990).

B) INHIBICIÓN DE LA HEMAGLUTINACIÓN:

En una microplaca de 96 pozos de fondo "V" se colocaron 25 microlitros de PBS pH 7.2, se realizaron diluciones dobles de los sueros tratados, con PBS, iniciando con una dilución 1:10 hasta finalizar con la dilución 1:640. Posteriormente se agregaron 25 microlitros de antígeno con 8 UHA y se incubó la microplaca durante 30 minutos a temperatura ambiente, después de transcurrido el tiempo se agregaron 25 microlitros de eritrocitos de ave al 1%.

Se utilizaron controles de suero positivo y negativo, en diluciones iguales a las realizadas con las muestras. Además se realizó hemaglutinación viral para corroborar que las UHA utilizadas eran las mismas, que las obtenidas al momento de la titulación.

Un control de eritrocitos conteniendo PBS y eritrocitos de ave se utilizó para determinar el tiempo de sedimentación de los glóbulos rojos. Para confirmar la validez de la prueba se aplicó el criterio de que el control positivo presentara una inhibición no menor a la dilución 1:160; el control negativo presentara aglutinación en todas las diluciones; la hemaglutinación viral se presentara como mínimo a la dilución de trabajo con 8 UHA y que el control de glóbulos rojos presentara sedimentación completa.

Se consideraron muestras negativas aquellas en las que se observó la formación de un botón rojo en el fondo del pozo. Se reportó la última dilución en donde se observó esta reacción correspondiendo al título de la muestra. Se consideraron muestras positivas las que presentaron un título a partir de 1:80 en adelante para descartar posibles reacciones inespecíficas (Rodríguez *et al.*, 1996).

3.3.2 NEUMONÍA MICOPLASMÁTICA

La prueba diagnóstica comercial CHEKIT-Hyoptest II fue utilizada para la detección de anticuerpos contra *Mycoplasma hyopneumoniae* en suero. Es una prueba de ELISA indirecta del Dr. Bommeli de Suiza. Se siguieron las instrucciones del fabricante. Las microplacas se encuentran recubiertas con antígeno inactivo. La dilución de las muestras debe realizarse cuando estas se encuentran incubándose dentro de los pozos de las placas.

El anticuerpo específico contra *Mycoplasma hyopneumoniae* se une al antígeno que recubre las paredes de los pozos formando el complejo antígeno-anticuerpo. Todo el material suelto se remueve del pozo por lavado de los mismos. Se agrega un conjugado marcado con peroxidasa, el cual se une al anticuerpo del cerdo unido al antígeno. Todo el conjugado libre se elimina por medio de lavado y el sustrato que contiene el cromógeno se agrega a los pozos.

La intensidad de color generado (densidad óptica) es directamente proporcional a la cantidad de anticuerpo específico contra *Mycoplasma hyopneumoniae* presente en la muestra analizada. La densidad óptica se mide a la longitud de onda de 405 nm. La interpretación se obtiene comparando la densidad óptica (OD) que se desarrolla en el pozo que contiene las muestras, con la OD de los pozos que contiene el control positivo. El resultado se obtiene tomando la OD de la muestra (ODm) así como la OD de los controles positivos (OD+), los cuales se corrigen restando la OD de los controles negativos (OD-) de la forma siguiente:

Control Positivo (OD+) menos (OD-)

(ODm) menos (OD-)

De tal manera que se evalúa la muestra con relación al control positivo con la fórmula siguiente:

$$\text{Valor} = \frac{(\text{ODm}) \text{ menos } (\text{OD-})}{(\text{OD+}) \text{ menos } (\text{OD-})} \text{ por } 100$$

La valoración de los sueros se realizó de la forma siguiente:

INTERPRETACIÓN	NEGATIVO	SOSPECHOSO	POSITIVO
Valor	< 20%	20% y 30%	> 30%

Las muestras con resultados sospechosos fueron analizadas en una segunda ocasión (como lo indica el fabricante) para determinar su interpretación final.

La especificidad de la prueba de ELISA es del 99.4% y la sensibilidad del 66.7%. Con una ligera disminución del valor del punto de corte, la sensibilidad puede ser del 100% a nivel de granja (Levonen, 1994).

3.3.3 PLEURONEUMÍA CONTAGIOSA PORCINA

La prueba diagnóstica "PLEUROTTEST" fue la utilizada para detectar la presencia de anticuerpos contra *Actinobacillus pleuropneumoniae*, diseñada por Ciprián *et al.*, (1990) y Ciprián y Mendoza (1994). Es una prueba de aglutinación directa en placa, destinada a identificar los anticuerpos producidos contra la cápsula de *Actinobacillus pleuropneumoniae* presentes en el suero de cerdos de cualquier edad.

El procedimiento de la prueba se realizó como la describen los autores: el frasco con el reactivo se dejó estabilizar a la temperatura ambiente (12-25°C) durante 10-15 minutos, utilizando un aplicador se colocó una gota del suero que se iba a analizar, en una de las celdas de la placa, posteriormente se colocó una gota del reactivo de aglutinación en la celda que contiene la gota del suero y se mezcló con movimientos rotatorios utilizando un palillo mezclador, se agitó la placa suavemente con movimientos ondulatorios durante 4 minutos y se efectuó la lectura, dentro de los dos minutos posteriores de haber finalizado la prueba. Interpretación: los sueros positivos mostraron una aglutinación fuerte, los sueros negativos permanecieron sin grumos, (Ciprián *et al.*, 1990). La prueba tiene una sensibilidad de 86% y una especificidad de 97% para el serotipo 1 (Colmenares *et al.*, 1992). Torres (1995) reporta una especificidad del 98% para los serotipos 1 y 5 y del 100% para los serotipos 3 y 7.

3.4 ANÁLISIS DE DATOS

Para el análisis de los datos se utilizó estadística descriptiva y analítica, los datos fueron capturados y analizados en el programa Epiinfo versión 6.04.

Se obtuvieron frecuencias y porcentajes y estos mismos se compararon utilizando la prueba de Ji cuadrada.

IV RESULTADOS

4.1 INFLUENZA PORCINA

4.1.1 FRECUENCIA DE GRANJAS POSITIVAS

El porcentaje de granjas positivas al virus de influenza porcina con títulos iguales o mayores a 1:80 fue de 56% (14/25). De los 1000 sueros obtenidos 83 (8.3%) y 651 (65.1%) resultaron positivos a los subtipos H1N1 y H3N2 respectivamente (Cuadro 4.1.1 y Figura 4.1.1)

Con respecto al número de animales seropositivos al VIP subtipo H1N1 por etapa de producción, se observaron los más altos porcentajes en las etapas de destete y crecimiento (Cuadro y Figura 4.1.1). No se observó diferencias estadísticamente significativa entre las etapas ($p < 0.05$).

Para el caso del subtipo H3N2, el mayor porcentaje (74.4%) se observó en la etapa de finalizado, se observaron diferencias significativas entre etapas ($p < 0.05$). Del total de sueros solo 66 compartieron los dos subtipos del virus de influenza porcina

Se observaron diferencias significativas ($P < 0.05$) de los subtipos entre animales y entre etapas de producción.

	No.	H1N1		H3N2	
		Positivos	Porcentaje	Positivos	Porcentaje
Destete	250	22	8.8 a	156	62.4 a
Crecimiento	250	24	9.6 a	140	56.0 a
Desarrollo	250	16	6.6 a	169	67.6 ab
Finalizado	250	21	8.4 a	186	74.4 b
Total	1000	83	8.3	651	65.1

Literales diferentes en la misma columna indican diferencias $P < 0.05$

Del total de sueros positivos, solo 66 fueron seropositivos a los dos subtipos

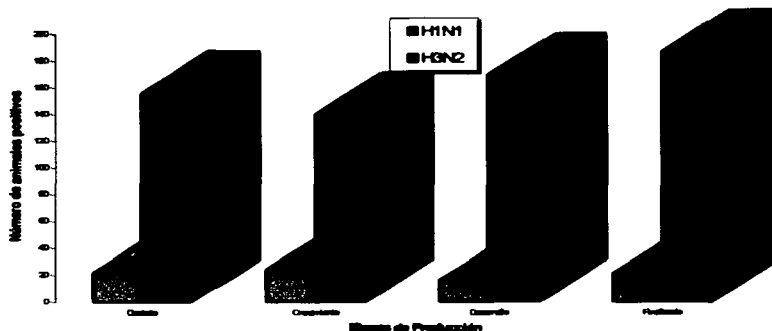


Figura 4.1.1 Frecuencia y distribución de animales seropositivos contra el Virus de Influenza Porcina subtipo H1N1 y H3N2 por etapa de producción

4.2 NEUMONÍA MICOPLASMÁTICA

4.2.1 FRECUENCIA

La frecuencia de granjas seropositivas a *Mycoplasma hyopneumoniae* fue del 100%, en todas se encontró al menos un animal positivo. Del total de sueros muestreados, en 297 se encontraron anticuerpos contra *Mycoplasma hyopneumoniae* lo que representa una frecuencia del 29%. Los porcentajes por etapa de producción se pueden observar en el cuadro 4.2.1 y figura 4.2.1 observándose el más alto en la etapa de finalizado. Se observaron diferencias estadísticamente significativas por etapa de producción ($p < 0.05$)

Cuadro 4.2.1 Número y porcentaje de animales que presentaron anticuerpos contra *Mycoplasma hyopneumoniae* en las diferentes etapas de producción en granjas del estado de Yucatán

Etapas	Muestras	Positivo	Porcentaje
Destete	250	27	10.8 a
Crecimiento	250	42	18.8 b
Engorda	250	71	28.4 c
Finalizado	250	157	62.8 d
Total	1000	297	29.7

Literales distintas en la misma columna indican diferencias $p < 0.05$

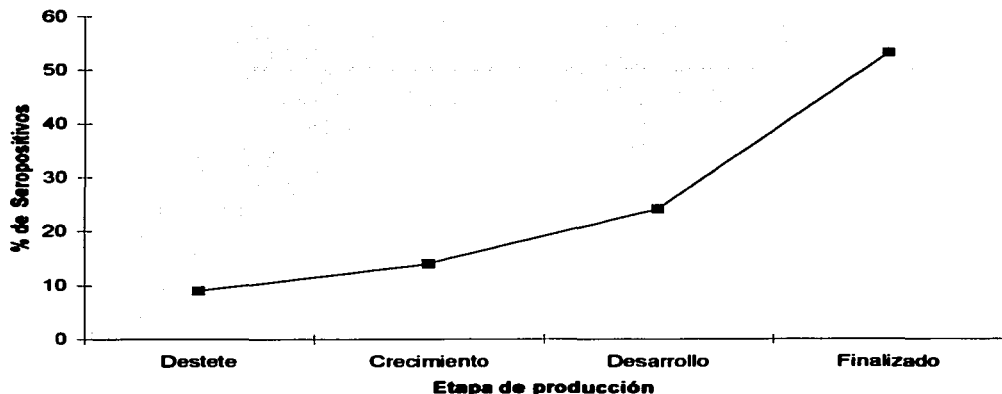


Figura 4.2.1 Frecuencia y distribución de animales seropositivos contra *Mycoplasma hyopneumoniae* por etapa de producción.

4.3 PLEURONEUMONÍA CONTAGIOSA PORCINA

4.3.1 FRECUENCIA

La frecuencia de granjas seropositivas a *Actinobacillus pleuropneumoniae* serotipo 1 fue del 100%, encontrándose al menos un animal seropositivo en cada una. Doce granjas fueron seropositivas al serotipo 3, lo que representa un 48% del total de las mismas. Asimismo el 76% de las granjas fueron seropositivas al serotipo 7

Del total de sueros analizados el serotipo 1 se identificó en 115, el serotipo 3 en 74 y el serotipo 7 en 101 muestras. Lo que equivale al 11.5%, 7.4% y 10.1% respectivamente como se observa en el Cuadro 4.3.1 y Figura 4.3.1

Con respecto a la etapa de producción el serotipo 1 se detectó en 9 sueros de la etapa de destete, 7 en la de crecimiento, 26 en la de engorda y 73 en la de finalizado. Existiendo diferencias significativas de este serotipo entre las etapas de producción. ($P < 0.05$)

El serotipo 3 se detectó en 8.6 % de los sueros en la etapa de destete, en 7.4% en la de crecimiento, en 4.6% en la de engorda y en 8.6% en la de finalizado como se observa en el cuadro 4.3.1 El serotipo 7 se detectó en 2.8% de los sueros en la etapa de destete, 5.9% en la de crecimiento, 11.3% en la de engorda y 19.7% en la etapa de finalizado, existiendo diferencias significativas del serotipo entre las etapas de producción (Cuadro 4.3.1).

Del total de sueros positivos al serotipo 1, 20 presentaron además anticuerpos contra el serotipo 3 y 34 contra el serotipo 7.

Cuadro 4.3.1 Porcentaje de animales que presentaron anticuerpos contra *Actinobacillus pleuropneumoniae* serotipos 1, 3, y 7 por etapa de producción.

Etapas	Muestras	Serotipo 1	Serotipo 3	Serotipo 7
Destete	250	3.6 a	8.6 b	2.8 a
Crecimiento	250	2.8 a	7.4 ab	5.9 a
Engorda	250	10.4 b	4.6 a	11.3 b
Finalizado	250	29.2 c	8.6 b	19.7 c
Total	1000	11.5	7.4	10.1

Literales distintas en la misma columna indican diferencias $p < 0.05$

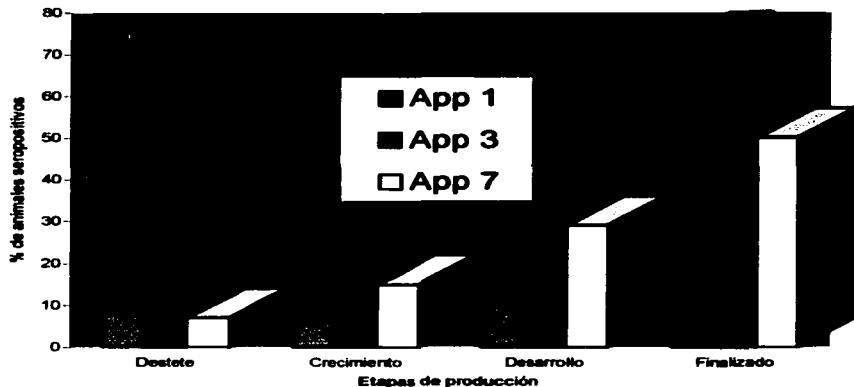


Figura 4.3.1. Frecuencia y distribución de Animales Seropositivos contra *Actinobacillus pleuropneumoniae* serotipos 1,3, y 7 por etapa de producción

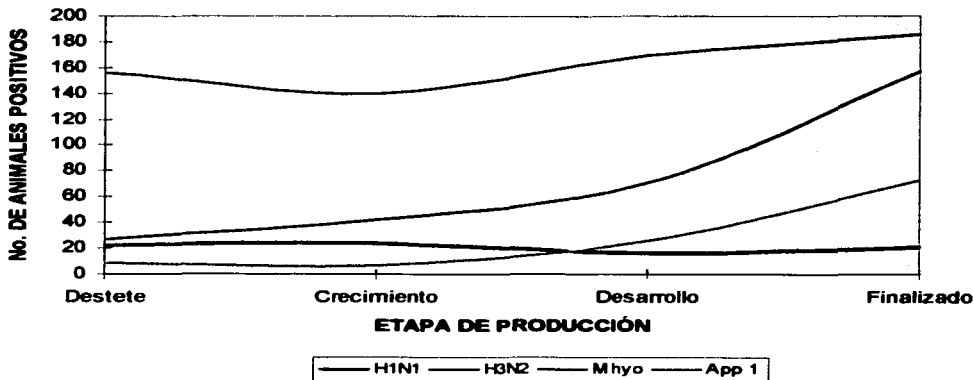


FIGURA 4.3.2. Frecuencia y distribución del virus de Influenza Porcina subtipos H1N1, H3N2; *M. hyopneumoniae* y *A. Pleuropneumoniae* serotipo 1 por etapa de producción

V DISCUSIÓN

5.1 INFLUENZA PORCINA

5.1.1 FRECUENCIA Y DISTRIBUCIÓN

Los resultados de este estudio indican que las granjas son seropositivas a agentes virales y bacterianos asociados al Complejo Respiratorio Porcino observándose diferentes frecuencias en las etapas de producción. El 56 % de las granjas muestreadas resultaron seropositivas contra el VIP subtipos H1N1 y H3N2 a la dilución 1:80. En Bélgica se reporta que más del 99.5% de las granjas de cerdos son seropositivas contra los subtipos H1N1 y H3N2 del VIP (Van Reeth y Guan, 2000). Comparando estas frecuencias con otros países se observa que en Holanda en un estudio realizado por Loeffen *et al.* (1999), en granjas de cerdos en los años de 1996 a 1998 sobre VIP, en sus dos subtipos H1N1 y H3N2, se diagnosticó en cerca del 50% de los casos de enfermedad respiratoria aguda. Esto indica una distribución del VIP en las granjas porcinas a escala mundial amplia. En México no se tenía información de su distribución en granjas y los resultados de este estudio indican una prevalencia alta a la reportada en países de Europa.

Del total de sueros muestreados, en 651 se detectaron anticuerpos contra el subtipo H3N2 representando el 65.1% y 83 sueros dieron resultados positivos para el subtipo H1N1, representando el 8.3%. El subtipo H3N2 se encuentra mayormente distribuido en la población porcina muestreada del estado de Yucatán, desde la fase de destete hasta la de finalizado. Janke (2000), reporta que a fines de los años 80 y a principio de los 90, en Canadá y posteriormente en los EEUU, se identificó este nuevo subtipo del VIP (H3N2) como un patógeno importante del cerdo. Este fue el primer reporte de un nuevo subtipo del VIP en los EEUU desde 1918. En las epizootias mas dramáticas con este nuevo subtipo, se observó como signo clínico la presencia de abortos en un gran número de marranas. Resultados similares fueron obtenidos en Taiwan por Tsai *et al.*, (2000).

La importancia de este subtipo como agente primario involucrado en enfermedades respiratorias de curso agudo y de formas subclínicas ha sido demostrado por (Loeffen *et al.*, 1999). Resultados similares han sido obtenidos en USA (Erickson y Swenson, 2000; Janke, 2000). Con respecto a subtipo H1N1, se observó una frecuencia muy baja, lo que parece indicar que este subtipo no representa un riesgo para los cerdos. Sin embargo Janke (2000), menciona que existe variación de antigenicidad entre las cepas del laboratorio que se utilizan como antígenos y las de campo. Lo que pudo haber influido en estos resultados. Como se observó, un porcentaje pequeño de animales fueron positivos para ambos subtipos en este estudio. Esto puede representar un riesgo de intercambio entre material genético como ha ocurrido anteriormente. La Infección simultanea de una célula con dos diferentes VIP puede iniciar el intercambio de segmentos del genoma originando un subtipo con reacomodo genético (Brown *et al.*, 1994).

Aunque en este estudio no se midió la incidencia de la enfermedad, si se puede observar un incremento de la frecuencia, como va aumentando la edad de los animales. En un estudio realizado en rastros por Tsai *et al.* (2000), se encontró que la incidencia mensual para el VIP subtipos H1N1 y H3N2 fue de 21.7% y 20.8% respectivamente; observándose dos

incrementos para el subtipo H1N1 durante el estudio. El incremento menor fue de 35% y el segundo alcanzó el 65% de seropositividad. Así mismo para el subtipo H3N2 se observó un solo incremento que alcanzó el 83% de seropositividad.

En un estudio realizado en México con animales finalizados que llegaban al rastro y a los cuales se les tomó muestras para detectar la presencia del VIP subtipo H1N1. Se encontró una seropositividad del 20.25% (Rodríguez *et al.*, 1996). Todavía no se conoce la participación que tiene el VIP en México como agente primario o secundario en el complejo respiratorio porcino. Sin embargo en otros países su participación esta bien documentada (Loeffen *et al.*, 1999).

Con relación a los anticuerpos detectados en los animales por etapa de producción, para el subtipo H3N2, se pudo observar que en la fase de destete, un 62 % de los animales fueron seropositivos. Estos son considerados anticuerpos de origen materno. En la fase de crecimiento se observa una disminución ligera de los mismos, lo cual se podría interpretar como una disminución de los anticuerpos de origen materno y el momento de infección. Posteriormente ocurre una seroconversión en la fase de desarrollo y finalización. Esta seroconversión se interpreta como una respuesta de los animales al entrar en contacto con el VIP.

Esto coincide con una práctica zootécnica en la cual existe movimiento y mezclado de animales lo que origina el contacto entre animales susceptibles con infectados, favoreciendo la diseminación del agente entre la población. La infección con VIP en cerdos jóvenes sugiere que frecuentemente pueden permanecer infectados en forma subclínica. Se reporta que existió seroconversión en animales al analizar muestras de sueros pareados sin que se observara sintomatología clínica en los mismos. Esto concuerda con los resultados de trabajos realizados en granjas de cerdos en la etapa de finalización en los que se reporta seroprevalencias elevadas sin historial clínico (Van Reeth y Pensaert, 1994; Andreasen *et al.*, 2000).

Con el resultado de este estudio se puede pensar que el VIP subtipo H3N2 se encuentran circulando ampliamente dentro de la población porcina, en granjas con flujo de producción continua. Iniciándose desde el hato reproductor que actúa como fuente de infección, difundiéndose por las fases de destete hasta la de finalizado y es en ésta cuando los animales seroconvierten en un número mayor, teniendo un papel importante en el complejo respiratorio porcino.

5.2 NEUMONÍA MICOPLASMÁTICA

5.2.1 FRECUENCIA Y DISTRIBUCIÓN

Mycoplasma hyopneumoniae se encontró en el 100% de las granjas muestreadas lo cual indica la alta distribución que tiene este microorganismo en los cerdos de destete, crecimiento y finalización. Esto coincide con lo reportado a nivel mundial en que se menciona que *M. hyopneumoniae* se encuentra ampliamente difundido en la población porcina. Heukelum y Van Heukelum (1994), reportan que utilizando la prueba de ELISA detectaron que el 73% de los hatos de engorda se encontraban seropositivos contra *M. hyopneumoniae* sin haber presentado signología clínica. En Alemania en un área con 2 935 granjas, se detectó que del 75 al 100% fueron seropositivas contra *M. hyopneumoniae* no existiendo diferencias por región o variación estacional (Ganter, 1998). La frecuencia y distribución de animales

seropositivos por etapa de producción fueron: en engorda el 81.2%, en lechones el 33%, en marranas de reemplazo el 63% y en marranas adultas el 47% (Ganter, 1998).

En Japón en un 64.3% de granjas convencionales, los cerdos seroconvirtieron a *M. hyopneumoniae* a la edad de 4 meses (Yagihashi *et al.*, 1993) Así mismo reportan, que utilizando la prueba de ELISA analizaron un total de 3,267 sueros porcinos del área de crecimiento y finalización, encontrando seropositividad en el 79.1% de los mismos. La seroprevalencia reportada contra *M. hyopneumoniae* en Suecia y Noruega es de 62% y 90% respectivamente (Ganter, 1998).

En un estudio realizado por Andreassen *et al.*, (2000), para conocer los patrones de seroconversión a patógenos respiratorios en nueve granjas porcinas, encontraron que la seroconversión contra *M. hyopneumoniae* se dio en el 100% de las mismas y ocurrió en los animales localizados en las unidades de crecimiento y finalización.

En un estudio realizado en Yucatán, en el cual se utilizó la prueba de ELISA, se reportó que el 93.3% de las granjas muestreadas tuvieron al menos un animal positivo (Moguel, 1997). Los resultados encontrados en las granjas muestreadas, sugieren que *M. hyopneumoniae* se encuentra ampliamente difundido en nuestro medio, es importante señalar que existe muy poca información al respecto en el estado por lo que estos resultados adquieren importancia al contribuir en ese sentido.

Del total de sueros trabajados el 29% dieron resultados positivos. Se observó que en la fase de destete se detectó un número menor de animales seropositivos. Sin embargo los animales seropositivos se van incrementando en las fases siguientes de crecimiento, desarrollo y finalización, siendo estadísticamente significativas, en estas dos últimas etapas, donde se observó de 3 a 5 veces más elevada, con relación a la primera fase. Como se puede observar *M. hyopneumoniae* se encuentra ampliamente distribuido dentro de la población porcina

Las marranas infectadas o portadoras de *M. hyopneumoniae* son la principal fuente de infección para sus lechones. Posteriormente existe la transmisión entre lechones en la maternidad (Clark *et al.*, 1991). Cuando los animales son destetados y se realiza el mezclado de animales, la tasa de diseminación se incrementa. De igual forma ocurre cuando los animales son bajados a la engorda. Este es una posible explicación de porque la frecuencia aumenta con la edad

Se sabe que los anticuerpos maternos contra *M. hyopneumoniae* comienzan a descender a la semana 6 de vida (Thacker, 1997; Andreassen *et al.* 2000), de allí que los anticuerpos detectados en la fase de destete sean considerados de origen materno. Así mismo el incremento de anticuerpos en la fase de crecimiento, desarrollo y finalización se deba a que el agente infeccioso se encuentra circulando dentro de la población. Esto se explica en parte por el sistema de producción de flujo continuo que se realizaba en las granjas estudiadas.

Se conoce que los anticuerpos detectados por la prueba de ELISA se encuentran en las muestras de suero de 6 a 8 semanas posinfección (Morris *et al.*, 1995; Thacker, 1997; Andreassen *et al.* 2000), por lo que se piensa que la infección ocurrió en las salas de maternidad y al momento del destete cuando existe mezcla de animales susceptibles e infectados. Es difícil determinar la edad exacta en que los animales se infectan con *M. hyopneumoniae* bajo condiciones de campo. La distribución mundial de *M. hyopneumoniae* sugiere que su transmisión es muy eficiente.

Pijoan y Ruiz (2001), comentan que animales muestreados con la prueba de PCR en brotes de campo se ha demostrado que una gran proporción de los mismos puede estar infectados antes de que se observe la diseminación rápida del organismo dentro de la misma. Esto sugiere que una carga mínima del agente puede estar presente antes de que ocurra la transmisión rápida. Esto explica en parte las diferencias epidemiológicas observadas en los variados sistemas de producción.

En las granjas convencionales con producción en un solo sitio y con flujo continuo la transmisión ocurre de forma muy rápida y los signos clínicos se observan en la fase de destete. Mientras que en los sistemas con alto grado sanitario con producción en tres sitios donde los cerdos son destetados y segregados los signos se observan muy retrasados y comúnmente no se observan sino hasta las últimas semanas del finalizado.

Loeffen *et al.* (1999). Señalan que *M. hyopneumoniae* se encuentra asociado con la enfermedad respiratoria crónica porcina. Estos autores señalan que *M. hyopneumoniae* se encontraba en los animales mucho antes de que presentaran signología clínica. Así mismo es posible que los cerdos que presentan la infección subclínica sean mucho más susceptibles a patógenos que causen brotes de problemas respiratorios agudos. La interacción de *M. hyopneumoniae* con *Pasteurella multocida* es bien conocida desde la década pasada

Una combinación de factores ambientales y el contacto con animales portadores de mayor edad, los cuales han presentado signos clínicos de neumonía incrementa el riesgo de infección y diseminación de la neumonía micoplasmática en cerdos alojados en las áreas de finalización (Clark *et al.*, 1991).

5.3 PLEURONEUMONIA CONTAGIOSA PORCINA

5.3.1 FRECUENCIA Y DISTRIBUCIÓN

Los resultados de seroprevalencia de granjas infectadas con *A pleuropneumoniae* sugieren que este agente se encuentra muy difundido en nuestro medio debido a que el 100% de las mismas resultaron positivas contra esta bacteria. Moguel (1997) reporta en un estudio realizado en Yucatán el 96.9% de seropositividad en 33 granjas muestreadas.

Los serotipo 1, 7 y 3 son los más difundidos en este estudio siendo el último el que en menor porcentaje se identificó. Esto coincide en parte con los resultados encontrados en trabajos anteriores en el Estado de Yucatán. Huchin (2000), realizó un estudio con los aislamientos de *A pleuropneumoniae* a los cuales se les realizó la serotipificación con la técnica de co-aglutinación. Estas cepas se obtuvieron de animales que habían llegado al rastro para su sacrificio. Así mismo reporta que se identificó a los serotipos 1, 4 y 11.

También en Yucatán, Torres (1995), encontró que los serotipos 1, 5 y 3, y 1 y 5 respectivamente, fueron los más frecuentes. En ambos estudios se utilizó la prueba de "Pleurotest".

También en Yucatán Moguel (1997), utilizando la Prueba de "Pleurotest" reporta que los serotipos más frecuentes fueron el 3,1,5 y 7. De acuerdo a lo anterior la mayoría de los autores coinciden al mencionar a los serotipo 1, 3 y 7 como los principales que se encuentra presente en el estado de Yucatán.

Como se puede apreciar los serotipos reportados en este estudio son similares a los reportados por Torres (1995) y Moguel (1997) lo que indica que los sistemas de producción que se practican en la región (flujo continuo) favorecen la persistencia de los mismos.

En Iowa, Estados Unidos se reporta que de 597 granjas muestreadas se detectaron anticuerpos contra *A. pleuropneumoniae* en el 68.8% y de un total de 7348 sueros analizados, en el 32.1% se detectaron anticuerpos contra el mismo agente (Schultz, *et al.*, 1982). El ministerio de agricultura estadounidense a través del sistema de vigilancia de salud animal (NAHMS) reporta que en granjas engordadoras de cerdos en 8.1% presentaron problemas de pleuroneumonía contagiosa porcina y en granjas de pic de cría 3.4% (USDA, 2002), esto indica que *A. pleuropneumoniae*, se encuentra muy difundido en la unión americana, siendo importante debido, a que es el principal origen del material genético que se introduce al Estado de Yucatán. En EEUU el serotipo 1,5 y en menor grado el 7 son los responsables del 95% de los casos clínicos de pleuroneumonía y los más prevalentes se ha observado que el serotipo 3 sí esta incrementando significativamente (Marsteller, y Fenwick, 1999).

En Europa los serotipos predominantes son el 2 y el 9 (Ganter, 1998; Gottschalk, 1998). Trabajos realizados en el norte de Alemania para conocer la prevalencia contra *A. pleuropneumoniae* en el pic de cría, señalan un 43.5% de seropositividad (Ganter, 1998), la prevalencia entre granjas fue de 56% y en granjas engordadoras la seropositividad fue de 91%.

En gran Bretaña se reporta un 53% de las granjas positivas, En Dinamarca, se encontró que el 75% de los animales son seropositivos (Ganter, 1998).

Sin embargo estos serotipos, pueden tener reacción cruzada con otros. Cuando se realiza la técnica de co-aglutinación se reportan dos nuevos serotipos el 4 y 11. La interpretación de los resultados serológicos debe de ser cuidadosa debido a que dentro de los serotipos de *Actinobacillus pleuropneumoniae* existen grupos que comparten antígenos, originando reacción cruzada. Ejemplo de esto es que los resultados serológicos positivos para el serotipo 3 se consideran como infección con el *A. pleuropneumoniae* de los grupos 3, 6 y 8.

Los serotipos 1, 9, y 11 son miembros de la misma familia debido a que poseen un antígeno común a nivel de membrana el Lipopolisacarido y producen el mismo patrón de Toxina. Las pruebas serológicas no son las más adecuadas para diferenciar estos tres serotipos. Por ejemplo si una granja se encuentra infectada con el serotipo 9, se pueden obtener resultados positivos contra el serotipo 1 (Gottschalk, 1999).

Actinobacillus pleuropneumoniae serotipo 1 se encontró en el 100% de las granjas muestreadas lo que demuestra su amplia distribución en la región. Por su frecuencia, el serotipo 7 ocupó el segundo lugar, se encontró en el 76% de las granjas trabajadas y en último término se encuentra el serotipo 3, el cual se detectó en el 48%. Como se puede observar el *A. pleuropneumoniae* se encuentra como uno de los patógenos en la población porcina del Estado de Yucatán.

En la fase de destete, los anticuerpos detectados contra esta bacteria se pueden interpretar como de origen maternal. Los anticuerpos maternos se van perdiendo hasta la fase de crecimiento lo cual concuerda con lo señalado en la literatura en la que se indica que a la edad de 8 a 12 semanas los anticuerpos maternos comienzan a desaparecer (Wongnarkpet *et al.*, 1999).

Posteriormente se observa un incremento de animales seropositivos obteniéndose el máximo en la fase de finalización. Esto se interpreta como evidencia de que los animales estuvieron en contacto con el microorganismo. En la mayoría de las granjas infectadas endémicamente, el 100% de los animales del hato reproductor presentan serología positiva (Marsteller y Fenwich, 1999). Las granjas infectadas con *A. pleuropneumoniae* se clasifican en cuatro categorías donde los criterios son la presencia de signos clínicos y la detección de anticuerpos circulantes. Aunque las granjas fueron seropositivas, no se puede decir que los animales estén afectados clínicamente, debido a que existen granjas que presentan signos clínicos y son serológicamente positivas y otras que no. Según algunos investigadores el 80% de las granjas se encuentran con serología negativa y serología positiva (Marsteller y Fenwich, 1999), lo que concuerda con el resultado de este estudio, se detecto seropositividad pero los síntomas clínicos característicos contra *A. pleuropneumoniae* no se observaron.

Con respecto a los serotipos encontrados en este estudio, se considera que el serotipo 1 es de un mayor riesgo para la población porcina. El serotipo 1 se encuentra clasificado como el de mayor virulencia debido a que produce la toxina Apx I la cual es una potente hemolisina y la Apx II que tiene una función similar a la primera y se encuentra controlada por el mismo grupo de genes (Gottschalk, 1999; Taylor, 1999). Con relación al serotipo 7 se considera menos virulento aunque produce seroconversión en una gran proporción de animales con muy pocos o solo algunos signos clínicos y parece ser importante en España y Nueva Zelanda (Wongnarkpet *et al.*, 1999).

Por otro lado los resultados sugieren que los sueros probados con el "Pleurotest" pueden aglutinar con un solo serotipo o con más de uno y los animales pudieron estar en contacto con uno o varios de ellos, por ejemplo, con el serotipo 1 y serotipo 3 aglutinaron el 17.3% de los sueros y con el serotipo 1 y 7 el 29.5% de los mismos. Lo anterior coincide con lo reportado por Torres *et al.* (1991), en el estado de México que encontró un 69.5% de sueros que aglutinaron con más de un serotipo.

En un trabajo realizado en Yucatán (Torres, 1995) encontró que un 54% de los sueros que resultaron positivos, aglutinaron con más de un serotipo y Moguel, (1997) También en Yucatán encontró que 37.2% de los sueros positivos aglutinaron con más de un serotipo de *A. pleuropneumoniae*.

En este trabajo se encontró por fase de producción que en la engorda y finalización se encontró el mayor porcentaje (23.8% y 19.6% respectivamente) de animales que reaccionaron con más de un solo serotipo. Se conoce que mientras más serotipos se encuentren circulando dentro de una población animal, la presentación clínica de la enfermedad es más severa y el control de la misma es más difícil.

Con base en los resultados obtenidos en este estudio se puede afirmar que los agentes bacterianos y virales asociados al complejo respiratorio porcino se encuentran presentes durante todo el período de engorda y pueden afectar los indicadores productivos de las granjas estudiadas en el estado de Yucatán.

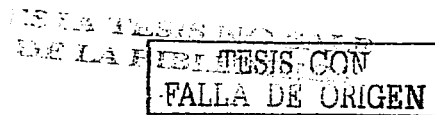
VI CONCLUSIONES

Existe una alta seroprevalencia contra el virus de Influenza Porcina, el *Mycoplasma hyopneumoniae* y *Actinobacillus pleuropneumoniae* en las granjas porcinas del Estado de Yucatán.

Los agentes estudiados se encuentran distribuidos en las diferentes etapas del período de engorda con diferentes frecuencias

Existe animales seropositivos a los subtipos H3N2 y H1N1 del virus de influenza, en las granjas porcinas del Estado de Yucatán

Existe animales seropositivos a los serotipos virulentos 1, 3 y 7 de *Actinobacillus pleuropneumoniae* en las etapas de engorda.



VII REFERENCIAS

- Andreasen, M.; Nielsen, J.P.; Baekbo, P.; Willeberg, P.; Botner, A.(2000). A longitudinal study of serological patterns of respiratory infections in nine infected Danish swine herds. *Preventive Veterinary Medicine*. 45:221-235.
- Baekbo, P. (1999). Procedures to eliminate *Mycoplasma hyopneumoniae* and produce *M. hyopneumoniae* free pigs: An update. Proceedings annual meeting 30 Th AASP p 479-481.
- Bikour, M.H.; Cornaglia, E.; Weber, J.M.; and Elazhary, Y. (1994). Antigenic characterization of an H3N2 swine influenza virus isolated from pigs with proliferative and necrotizing pneumonia in Quebec. *Can J Vet Res*. 58(4): 287-290.
- Brown, I.H. (2000). The epidemiology and evolution of influenza viruses in pigs. *Vet Microbiology*. 74: 29-46.
- Brown, I.H.; Done, S.H.; Spencer, Y.I.; Cooley, W.A.; Harris, P.A.; Alexander, D.J.(1993). Pathogenicity of a swine influenza H1N1 virus antigenically distinguishable from classical and European strains. *Vet. Rec*. 132:598-602.
- Brown, I.H.; Manvell, R.J.; Alexander, D.J.; Chakraverty, P.; Hinshaw, S.V.; Webster, G.R.(1993b). swine influenza outbreaks in england due to a new H1N1 virus. *Vet. Rec*. 132:461-462.
- Brown, I.H.; Alexander, D.J.; Chakraverty, P.; Harris, P.A.; Manvell, R.J.(1994). Isolation of an influenza A virus of unusual subtype (H1N7) from pigs in England, and the subsequent experimental transmission from pig to pig. *Vet. Microbiology*. 39:125-134.
- Carlton, J. (1999). New H3N2 swine flu virus is spreading in United States. *Swine Practitioner*, September. pp 4-6.
- Ciprián, A.; Colmenares, G.; Mendoza, S. (1990). La enfermedad en México *Actinobacillus pleuropneumoniae*. Compendio de *Actinobacillus pleuropneumoniae*. Editado por AMVEC. pp 29-42.
- Ciprián, A. y Mendoza, S. (1994). *Actinobacillus pleuropneumoniae* agente responsable de la pleuroneumonía contagiosa porcina. *Memorias del Primer Ciclo de afecciones Respiratorias del cerdo*. curso Teórico-Práctico. pp83-96.
- Clark, K.; Freeman, J.; Scheidt, A.; Knox; K. (1991). Investigating the transmission of *Mycoplasma hyopneumoniae* in a swine herd with enzootic pneumonia. *Veterinary Medicine*. May. 543-550.

Clark, L.K.; Scheidt, A.B.; Armstrong, C.H.; Knox, K.; Mayrose, V.B. (1991b). The effects of all in /all out management on pigs from a herd with enzootic pneumonia. *Vet. Med.* 9: 946-951.

Clark, K. (1997). Control or eradication of *Mycoplasma pneumoniae*. Proceeding of the ISU Vet. Medicine Seminar *Mycoplasma Pneumonia in modern Swine Production Units*. Iowa State University. p 8-10.

Clark, K. (1999). *Mycoplasma hyopneumoniae*: Serology/Vaccinology Proceeding annual meeting 30 th AASP. 365-369.

Colmenares, G.; Mendosa, S.; Ayala, G.; Ciprián, A. (1992). A rapid field serological test for the diagnostic of *Actinobacillus pleuropneumoniae* serotype 1. Proceeding 12 th International pig Veterinary Society. The Hague, The Netherland: pp223.

Cornaglia, E.; Lallier, R. (1999). serological monitoring: TGEV-PRCV and *Mycoplasma hyopneumoniae*. Proceeding annual meeting 30 th AASP. pp 91-93.

Duch, J. (1998). La conformación territorial del estado de Yucatán. Los componentes del medio físico. México. Universidad Autónoma de Chapingo. pp 105-227.

Easterday, B.C. y Van Reeth, .K. (1999). Swine Influenza En: *Disease of Swine* 8TH edition editado por Straw, B., A'Allaires, S., Mengeling, and Taylor, D., Iowa State University Press.

Erickson, G.A. y Swenson, S.L. (2000). H3N2 SIV in the USA . *Pig progress*.16 (6) suplemento 8-9.

Estrada, R. (1998). Latin America what is the prevalence an economical effect of respiratory disease? *Pig Progress*.14:6-8.

Fedora-Cray, P.J.; Cray, C.W.; Gray, T.J.; Breisch, A.S.; Hoffman, L.; Anderson, G. A. (1993). *Actinobacillus (haemophilus) pleuropneumoniae* Part 1. History, Epidemiology, Serotyping, and Treatment. Compendium on Continuing Education for the Practicing Veterinarian. 15(10)1447-1454.

Fenwick, B. (1990). Diagnostico de pleuroneumonia porcina en laboratorio. Primer Simposium internacional de *Haemophilus (Actinobacillus) pleuropneumoniae*. Editado por la AMVEC. pp17-22.

Frey, J. y Nicolet, J. (1990). Cloning and expression of a cohemolysin, the CAMP factor of *Actinobacillus pleuropneumoniae*. *Infect. immun.* 57: 2050-2056.

Ganter, M. (1998). Respiratory disease. Europe. *Pig Progress*.14: 12-16.

Gardner, I.A. y Blanchard, P.B. (1999). Interpretation of laboratory results. En: Disease of Swine 8TH edition editado por Straw, B., A'Allaires, S., Mengeling, and Taylor, D. Iowa State University Press. Pp19-39.

Gobierno del estado de Yucatán. (2002). Primer informe de gobierno del estado de Yucatán. (serial online) Available from: URL: http://www.yucatan.gob.mx/informe/texto/informe_texto.htm.

Gottschalk, M. (1998). *Actinobacillus pleuropneumoniae*, Respiratory diseases. Pig progress. pp34-35.

Gottschalk, M. (1999). *Actinobacillus pleuropneumoniae*: An update. American Association of Swine Practitioners 357-361.

Gourreau, J.M.; Kaiser, C.; Valette, M.; Douglas, A.R.; Labie, J. and Aymard, M. (1994). Isolation of two H1N1 influenza viruses from swine in France. Archivo virol. 135:365-382.

Halbur, G.P. (1997). Making the Diagnosis with Serology, Antigen Detection and PCR. Proceeding of the ISU Vet. Medicine Seminar Mycoplasmal Pneumonia in the Modern Swine Production Units. pp3-7.

Heukelum, G. y Van-Heukelum, G. (1994). Serological survey for porcine enzootica pneumonia in breeding and piglet-rearing herds in doulthern Hesse, Germany. Tierarztliche Hochschule, Hannover Germany. 121-p16. Resumen Internacional CAB Abstract.

Hill, M.A.; Scheidt, A.B.; Teclaw, F.R.; Clark, L.K.; Knox, E.K.; Jordan, M. (1992). Association between growth indicators and volume of lesions in lungs from pigs slaughter. Am. J. Vet. Res. 53: 2221-2223.

Hill, M.A.; Scheidt, A.B.; Teclaw, F.R.; Clark, L.K.; Knox, E.K.; Jordan, M. (1994). Relationship between the performance and the weight of pneumonia lesions from pigs at slaughter. Res. Vet. Science. 56: 240-244.

Huchin, A.L. (2000). Serotipificación de *Actinobacillus pleuropneumoniae* por la técnica de co-aglutinación en combinación con la técnica de estimación cuantitativa por dilución doble. FMVZ UADY. Tesis de licenciatura.

INEGI. (1997). Anuario estadístico del estado de Yucatán. Edición 1997.

Inzana, T. (1990). Propiedades biofísicas y de virulencia de *Actinobacillus pleuropneumoniae*. Primer Simposium Internacional de Haemophilus (*Actinobacillus*) *pleuropneumoniae*. Editado por la AMVEC. pp 1-8.

Janke, H. B. (1997). Pathogenesis of Mycoplasmal Pneumonia, Samples for Diagnosis. Proceeding of the ISU Vet. Medicine Seminar Mycoplasmal Pneumonia in the Modern Swine Production Units. pp 1-2.

Janke, H.B. (2000). Diagnostic of swine influenza. Swine Health and Production. 8(2):79-84.

Janke, H.B. (2001). Swine influenza and PRDC. Pig progress. suplemento. 17(6): 28-30.

JóKlik, K.W., Willett, P.H., Amos, B.D. (1983). Zinzer Microbiología. 17 edición Editorial Panamericana, Buenos Aires Argentina.

Larsen, D.L.; Karasin, A.; Zuckermann, F. and Olsen, C.W. (2000). Systemic and mucosal immune responses to H1N1 influenza virus infection in pigs. Veterinary Microbiology. 74 (1-2):117-131.

Levonen. K. (1994). Detection of enzootic pneumonia in pig herds using an enzyme-linked immunosorbent assay in sow colostrum. Research in Veterinary Science. 56:111-113.

Loeffen, W.L.A.; Kamp, E.M.; Stockhofe-Zurwieden, N.; Van Nieuwstadt, A.P.K.; Bongers, J.H.; Hunneman, A.R.; Elbers, R.W.; Baars, J.; Nell, T.; Van Zuiderveld, F.G.(1999). Survey of infection agents involved in acute respiratory disease in finishing Pigs. Vet. Record. 145: 123-129.

Loeffen, W. (2001). A production balancing act. Pig Progress. suplemento.17(6): 4-6.

Lugo, C.; Torres, O.; Marquez, L.; Mendoza, S.; Lara, V y Ciprián, A. (1990). Estudio bacteriológico y patológico comparado con el diagnostico "pleurotest" en pulmones y sueros colectados en rastro. En Memorias del XXV Congreso Nacional AMVEC. Puerto Vallarta Jalisco pp 39-42.

Marsteller, T.A. y Fenwick, B. (1999). *Actinobacillus pleuropneumoniae* disease and serology. Swine Health Prod. 7(4): 161-165.

Moguel, J.R. (1997). Seroprevalencia y descripción de algunas variables relacionadas a la presentación de *Actinobacillus pleuropneumoniae* y *Mycoplasma hyopneumoniae* en granjas porcinas de Yucatán. FMVZ- UADY. Tesis de maestría.

Martin, S.W., Meek, A.H., and Willenberg, P. (1987). Veterinary Epidemiology. Iowa State University Pres. Ames, USA.

Morris, R.C.; Gardner, A.I.; Hietala, K.S.; Carpenter, E.T.; Anderson, J.R.; Parker, M.K. (1995). Seroepidemiologic study of natural transmission of *Mycoplasma hyopneumoniae* in a swine herd. Preventive Vet. Med. 21: 323-337.

Navarro, F.R. (1988). Introducción a la Bioestadística. Análisis de variables binarias. Ed. McGraw-Hill, México D.F.

Nielsen, R.; Andresen, O.L.; Plambeck, T.; Nielsen, P.J.; Krarup, T.L.; Jorsal, E. S. (1997). Serological characterization of *Actinobacillus pleuropneumoniae* biotype 2 strains isolated from pigs in two Danish herds. *Veterinary Microbiology*. 54: 35-46.

Pensaert, M. (1995). *Influenza Porcina*. Pigs misset especial sept. 95. pp 8-9.

Píjoan, C. (1994). El perfil serológico: Su utilización para la prevención y el tratamiento en explotaciones. ANAPORC No.140 pp5-10.

Píjoan, C. y Ruiz, A. (2001). Transmission of *M hyopneumoniae*. *Pig Progress*. suplemento.17(6):14-15.

Ramírez, S. M. (1981). Aislamiento e identificación del virus de la influenza Porcina en México. Tesis de Licenciatura FMVZ, UNAM, México D.F.

Rodríguez, T.J.; Ramírez, M. H.; Carreón N. R.; Mercado, G.C. (1996). Muestreo serológico a nivel de rastro para detectar anticuerpos contra el virus de Influenza Porcina. *Vet. México* 27: (1) pp17-21.

Rockborn, G.; Klingerborn, B.; Juntti, N. (1990). *Diagnostic virology: Second Part Guidebook to Procedures*, Editado por J. Moreno-López. pp 39-43.

Ross, F.R. (1999). *Mycoplasmal Diseases*. Citado en *Disease of Swine 8TH edition* editado por Straw, B., A'Allaires, S., Mengeling, and Taylor, D. Iowa State University Press.

Schultz, R.A.; Young, T.A.; Ross, D.F.; Jeske, D.R. (1982). Prevalence of antibodies to *Haemophilus pleuropneumoniae* in Iowa swine. *Am. J. Vet. Res.* 43(10) 1848-1851.

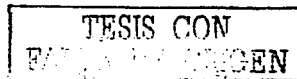
Stevenson, G.W. (1998). La neumonía bacteriana en cerdos. *Memorias Reunión ELANCO, Animal Health, Mérida, Yucatán, México*. pp1-15.

Stine, D.L.; Fedorka-Cray, P.; Huether, J.M.; Gentry, J.M.; Anderson, G.A. (1994). Comparison of serum response in swine after vaccination and challenge exposure whit *Actinobacillus pleuropneumoniae* serotype 1. *Am. J. Vet. Res.* 55:1228-1243.

Sugimura, T.; Yonemochi, H.; Ogawa, T.; Tanka, Y.; and Kumagai, T. (1980). Isolation and recombinant influenza virus (Hsw1N2) from swine in Japan. En: *Disease of Swine 8TH edition* editado por Straw, B., A'Allaires, S., Mengeling, and Taylor, D. Iowa State University Press.

Taylor, J.D. (1999). *Actinobacillus pleuropneumoniae* Citado en *Disease of Swine 8TH edition* editado por Straw, B., A'Allaires, S., Mengeling, and Taylor, D. Iowa State University Press.

Taylor, J.D. (1999b). *Pig Disease*. Seventh edition. St. Edmundsbury Press. Ltd, Bury St Edmunds, Suffolk.



Thrusfield, M. (1990). *Epidemiología Veterinaria*. Ed. Acribia, Zaragoza, España.

Thacker, L.E. (1997). *Mycoplasma vaccines: what we know, what we don't know*. Proceeding of the ISU Vet. Medicine Seminar *Mycoplasma Pneumonia* in modern Swine Production Units. Iowa State University. pp 11-13.

Thacker, L.E.; Halbur, G.P.; Thacker, J.B. (1999). Effect of vaccination on dual Infection with *Mycoplasma hyopneumoniae* and PRRSV. . Proceeding annual meeting 30 Th AASP. pp375-377.

Tielen, M. (1995). Las enfermedades respiratorias de los cerdos: Prevalencias y efectos económicos. *Pigs misset especial* Sept. 95 pp 4-5

Torres, A.; Carrión, M.; Mendoza, S; Ciprián, A. (1991). Estudio serológico con Pleurotest empleando los serotipos 1,2,3,5,7,9 de *Actinobacillus pleuropneumoniae* relacionado con la patología y bacteriología de pulmones colectados en rastro. En memorias del XXVI congreso nacional AMVEC. Mérida, Yucatán. pp 157-159.

Torres, M. (1995). prevalencia de lesiones en pulmones y evaluación de una prueba de aglutinación en placa (Pleurotest) para la detección de anticuerpos contra *Actinobacillus pleuropneumoniae* en cerdos sacrificados en el rastro municipal de Mérida, Yucatán. FMVZ-UADY. Tesis de maestría.

Tsai, C.P.; Cheng, M.C.; Lin, D.T.; Chen, C.M. (2000). The prevalence of hemagglutination-inhibition (HI) antibodies to influenza viruses A/swine/Iowa/15/30(H1N1) and A/Swine/Obihiro/10/85(H3N2) in Taiwan pigs July 1998-march 2000. Memorias de la 16th International pig Veterinary Society Congress, Melbourne, Australia.

USDA. (2002). National animal health monitoring service 2002. Part II reference of swine health and health management in USA. (serial online) Available from: URL: <http://www.Aphis.usda.gov/vs/ceah/cahm/Swine/swinepart2.pdf>.

Van Reeth, K y Pensaert, M.B.(1994) Porcine respiratory Coronavirus mediated interference against influenza virus replication in the respiratory tract of feeder pigs. *American Journal of Veterinary Research*, 55: 1275-1281.

Van Reeth, K y Guan, Y. (2000). Swine Influenza: an update from Europe and Asia. *Pig progress*. suplemento 16: 4-7.

Van Reeth, K. (2000). Cytokines in the pathogenesis of influenza. *Vet Microbiology*. 74(1-2): 109-116.

Webby, R.; Swenson, L.S.; Krauss, L.S.; Gerrish, J.P.; Goyal, M.S.; Webster, G.R. (2000). Evolution of Swine H3N2 Influenza Virus in the United States. *Journal of Virology*. 74: 8843-8251.

Wongnarkpet, S.; Morris, R.S.; Pfeiffer, D.U. (1999). Field efficacy of combined use of *Mycoplasma hyopneumoniae* and *Actinobacillus pleuropneumoniae* vaccine in growing pigs. *Preventive Veterinary Medicine*. 39: 13-24.

Wongnarkpet, S.; Pfeiffer, D.U.; Morris, R.S.; Fenwick, S.G. (1999b). An on-farm study of the epidemiology of *Actinobacillus pleuropneumoniae* infection in pigs as part of a vaccine efficacy trial. *Preventive Veterinary Medicine*. 39:1-11.

World Health Organization (WHO). (1980). Memorandum: A revision of the system of nomenclature for influenza virus. *Bulletin*. WHO 58: 585-591.

Yagihashi, T.; Kazama, J.Y.; Tajima, M. (1993). Seroepidemiology of mycoplasmal pneumonia of swine in Japan as surveyed by an enzyme-linked immunosorbent assay. *Vet. Microbiology*. 34(2):155-166.

Zhou, N.N.; Senne, A.D.; Landgraf, S.J.; Swenson, L.S.; Erickson, G.; Rossow, K.; Liu, L.; Yoon, K.; Krauss, S.; Webster, G.R. (1999). Genetic Reassortment of Avian, Swine, and Human Influenza A virus in American pigs. *Journal of virology*. 73: 8851-8856.