



11661



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
"CUAUTITLÁN"

EFFECTO DEL RUBULAVIRUS PORCINO EN LA PRESENTACION DE
LA PLEURONEUMONIA PORCINA PRODUCIDA POR
Actinobacillus pleuropneumoniae SEROTIPO 1

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
MAESTRA EN MICROBIOLOGIA

P R E S E N T A

MARTINA ERICKA TORRES PEREZ

Directores

Dr. Abel Ciprián Carrasco.

Dr. Susana Mendoza Elvira

Asesores

Dr. Jorge Tórtora Pérez

Dr. Pablo Correa Girón

CUAUTITLÁN IZCALLI, EDO. DE MEXICO

2005

m340627



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.

Autorizo a la Dirección General de Bibliotecas de la UNAM a difundir en formato electrónico e impreso el contenido de mi trabajo recepcional.

NOMBRE: Martina Ericka Torres
Pérez

FECHA: 22 / 11 / 04

FIRMA: Ericka Torres P.

**EFFECTO DEL RUBULAVIRUS PORCINO EN LA PRESENTACION DE
LA PLEURONEUMONIA PORCINA PRODUCIDA POR
Actinobacillus pleuropneumoniae SEROTIPO 1**

Tesis presentada ante la
Coordinación de Estudios de Posgrado de la
Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán de la
Universidad Nacional Autónoma de México.

Para la obtención del grado de
Maestra en Ciencias de Microbiología

Por la
M.V.Z Martina Ericka Torres Pérez

2004

Directores

Dr. Abel Ciprián Carrasco.

Dr. Susana Mendoza Elvira

Asesores

Dr. Jorge Tórtora Pérez

Dr. Pablo Correa Girón

DEDICATORIA

A Erick y a Edgar porque todos los días
me recuerdan que vale la pena seguir adelante.

Y porque:

Si yo lo puedo hacer
¿Por qué vos no puedes?

El Che Guevara.

A mi querido esposo Raúl porque es ejemplo de trabajo, dedicación y honestidad. Y porque
mis mejores momentos siempre son a su lado.

A mi madre, por su amor incondicional y su incomparable ayuda.

**¡Muchas Gracias!
¡Los amo!**

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a todas las personas que con su ayuda, hicieron posible el que alcanzará esta meta, especialmente

A Raúl, Edgar y Erick por su amor, apoyo y comprensión y porque juntos hacemos el mejor equipo. ¡Los amo!

A mi madre por toda su ayuda ¡Muchas Gracias!, Te amo.

A mis sobrinos y hermanos porque hacen más interesante mi vida.

A mis directores de tesis, los doctores Abel Ciprián Carrasco y Susana Mendoza Elvira. Por su apoyo, trabajo y comprensión. ¡Muchísimas Gracias!

A mis asesores, los doctores Jorge Tórtora Pérez y Pablo Correa Girón ¡Muchas gracias! por su dedicación.

A la Dra. Margarita Trujano Castillo por su ayuda incondicional.

A mis sinodales por su tiempo invertido.

A todo el equipo de Posgrado, compañeros y amigos, que hicieron posible este trabajo.

A mi Amigo, Horacio Lara por su apoyo, cariño y comprensión.

A mis grandes amigos Leti y Toño porque siempre están a mi lado apoyándome. ¡Los quiero mucho!

A mis maestros porque forman parte de mi desarrollo profesional.

A mis amigos Lety, Jesús, Blanca y Florencia por ser ejemplo de trabajo y honestidad.

A mis queridos alumnos porque significan un estímulo constante de superación

A mis compañeros y amigos de la Universidad Tecnológica de Tecámac especialmente a los profesores y laboratoristas de Biotecnología por su apoyo, comprensión y cariño y porque junto lo hacemos mejor.

A mis amigos de la Subdirección de Calidad porque con ellos vivo aventuras que nunca pensé vivir, ¡Muchas Gracias! por todo lo que me han enseñado.

A las autoridades de la Universidad Tecnológica de Tecámac por todo su apoyo ¡Muchas gracias!.

HONORABLE JURADO

PRESIDENTE: M. en C. José Miguel Doportó Díaz

VOCAL: Dra. Ma. Elena Trujillo Ortega

SECRETARIO: Dr. Víctor Rubén Tenorio Gutiérrez

SUPLENTE: Dr. Antonio Morilla González

SUPLENTE: Dr. Abel Ciprián Carrasco

Este trabajo se realizó bajo la dirección del Dr. Abel Ciprián Carrasco y de la Dr. Susana Mendoza Elvira en el laboratorio de Virología de la Coordinación de Posgrado y bajo la asesoría del Dr. Jorge Tórtora Pérez en el laboratorio de patología de la carrera de MVZ de la FES-C y del Dr. Pablo Correa Girón en las instalaciones del CENID-Microbiología del INIFAP y gracias a la beca No. 90579 que me otorgó el CONACYT para realizar mis estudios de Maestría. El proyecto fue apoyado por PAPIIT IN 223203-2.

INDICE

	Pág.
Resumen.....	4
Introducción.....	6
Importancia de las enfermedades respiratorias.....	7
Relación entre el medio ambiente y la presencia de enfermedades respiratorias en las granjas porcinas.....	12
Interacción entre microorganismos.....	14
Pleuroneumonía contagiosa porcina.....	20
Enfermedad del ojo azul.....	46
Objetivo general.....	58
Objetivos particulares.....	59
Material y Métodos.....	60
I. Animales de Experimentación.....	60
II. Alimento.....	60
III. Instalaciones.....	61
IV. Manejo de los animales al llegar a las instalaciones.....	61
V. Material Biológico.....	61
VI. Método de inoculación.....	62
VII. Evaluación de animales y obtención de muestras.....	63
Resultados.....	67
Discusión.....	85
Conclusiones.....	92
Bibliografía.....	94

INDICE DE TABLAS Y FIGURAS.

	Pág.
Tabla 1. Clasificación de las bacterias involucradas en procesos respiratorios.....	7
Tabla 2. Clasificación de los virus dentro del CRP.....	8
Tabla 3. Agentes tradicionales y actuales.....	11
Tabla 4. Principales actividades bioquímicas de <i>A. pleuropneumoniae</i>	23
Tabla 5. Resumen de las características bioquímicas que permiten diferenciar <i>A. pleuropneumoniae</i> de otros patógenos.....	24
Tabla 6. Producción de toxinas (Apx) por los distintos serotipos de App.....	28
Tabla 7. Factores de virulencia de <i>A. pleuropneumoniae</i> y su función.....	29
Tabla 8. Distribución geográfica de los serotipos de App.....	31
Tabla 9. Parámetros que son afectados por el Rubulavirus porcino.....	52
Tabla 10. Inoculación por grupos.....	60
Tabla 11. Día 1, aerosolización del Rubulavirus porcino.....	62
Tabla 12. Aerosolización de <i>Actinobacillus pleuropneumoniae</i> serotipo I, 72 hrs. después de la inoculación con Rvp.....	63
Tabla 13. Registro de temperatura y signos por día del grupo.....	68
Tabla 14. Registro de temperatura y signos por día del grupo II.....	69
Tabla 15. Registro de temperatura y signos por día del grupo III.....	70
Tabla 16. Registro de temperatura y signos por día del grupo IV.....	71
Tabla 17. Resumen de la presentación de signos en cada uno de los animales y grupos....	74
Tabla 18. Valores obtenidos por planimetría.....	75
Tabla 19. Porcentaje de lesión macroscópica por animal y promedio por grupo.....	75
Tabla 20. Descripción de lesiones histopatológicas.....	78
Tabla 21. Numero de lesiones por grupo.....	79
Tabla 22. Resultados de serología del grupo I.....	80
Tabla 23. Resultados de serología del grupo II.....	80
Tabla 24. Resultados de serología del grupo III.....	80
Tabla 25. Resultados de serología del grupo IV.....	80

Tabla 26. Resultados del aislamiento bacteriológico y virológico del grupo I.....	81
Tabla 27. Resultados del aislamiento bacteriológico y virológico del grupo II.....	81
Tabla 28. Resultados del aislamiento bacteriológico y virológico del grupo III.....	82
Tabla 29. Resultados del aislamiento bacteriológico y virológico del grupo IV.....	82
Tabla 30. Resumen de las lesiones a la necropsia, aislamiento bacteriológico y viral.....	82
Tabla 31. Peso de los animales al inicio y al final del experimento y ganancia de diaria peso y CA.....	83
Tabla 32. Ganancia total de peso, ganancia diaria de peso y conversión alimenticia promedio por grupo.....	83
Figura 1. Secreción nasal y hiperemia de orejas y vientre.....	35
Figura 2. Postración, disnea intensa y respiración bucal.....	35
Figura 3. Hemorragia pulmonar severa.....	37
Figura 4. Zonas de pleuritis.....	37
Figura 5. Rubulavirus porcino, microscopía electrónica.....	48
Figura 6. Temperatura promedio por grupo.....	72
Figura 7. Planimetrías por grupos.....	76
Figura 8. Porcentaje de lesión por grupo.....	77
Figura 9. Ganancia de peso y conversión alimenticia.....	84

RESUMEN

Las enfermedades respiratorias provocan grandes pérdidas económicas en la porcicultura nacional y generalmente son el resultado de un complejo multifactorial y multietiológico; por lo que el conocimiento de estas interacciones permitiría el control de ellas.

El objetivo del presente trabajo fue determinar si existía una sinergia entre el Rubulavirus porcino y el *Actinobacillus pleuropneumoniae*, en la presentación de la pleuroneumonía contagiosa porcina y/o en la enfermedad del ojo azul. Para este estudio fueron utilizados 14 cerdos convencionales obtenidos de una granja libre de anticuerpos contra la enfermedad de Aujeszky (VEA), PRRS, enfermedad del ojo azul (Rvp) y pleuroneumonía porcina (PP). Los animales fueron distribuidos aleatoriamente en 4 grupos. Los grupos II, III y IV estuvieron conformados por 4 cerdos cada uno y el grupo I por 2 animales, este último representó al grupo control del experimento.

El grupo II fue inoculado con el Rubulavirus porcino (Rvp) y el III se inoculó con *A. pleuropneumoniae* (App) serotipo I, al grupo IV se le inoculó con el Rvp y con el App serotipo I.

Para la infección con el Rubulavirus porcino, se utilizó la cepa LPM a una dosis de 10^4 TCID₅₀, a cada animal le fueron inoculados 6 ml del Rvp, por medio de nebulización, durante 30 min. Para lograr la replicación de PP se utilizó una cepa de campo de *A. pleuropneumoniae* serotipo 1 a una dosis mínima de 2.35×10^5 UFC/ml. A cada animal se le inocularon 6 ml de la bacteria, por medio de nebulización, durante 30 min., 72 horas después de la inoculación de Rvp.

El día de ingreso a las instalaciones los animales fueron sangrados y pesados, al igual que el día 0 del experimento y al término de éste. Diariamente se registraron las condiciones de salud de los animales y se tomaron temperaturas. Todos los animales se sacrificaron a las 96 h. después de la inoculación con *Actinobacillus pleuropneumoniae* (al presentarse los signos en los cerdos del grupo III). Se realizaron las necropsias, se evaluaron las lesiones macroscópicas por planimetría y se obtuvieron muestras para histopatología, aislamiento viral y bacteriológico.

La presentación de signos y severidad de los mismos fue similar entre grupos II y IV. Las lesiones macroscópicas se limitaron a una neumonía fibrino-hemorrágica de moderada a severa dependiendo del grupo afectado. El porcentaje de lesión por grupo fue: 0% para el grupo I, 3% para los grupos II y III y 2.25 % para el grupo IV .

Los sueros obtenidos de los animales el día de ingreso a las instalaciones, el día 0 del experimento y al término de éste resultaron negativos a *Actinobacillus pleuropneumoniae* y Rubulavirus porcino. También fueron trabajados para la detección de anticuerpos contra VEA, PRRS y *M. hyopneumoniae* siendo igualmente negativos.

Se realizó el aislamiento de *Actinobacillus pleuropneumoniae* en 7 animales y de Rubulavirus porcino en 4, en los demás animales no se logró el aislamiento.

Los resultados obtenidos no muestran evidencias de un sinergismo entre *Actinobacillus pleuropneumoniae* y Rubulavirus porcino; ya que los signos y lesiones fueron similares en los grupos problema II y IV y aunque las lesiones macroscópicas no fueron las esperadas, las lesiones microscópicas encontradas nos sugieren, la presencia de un agente viral y uno bacteriano. En el caso de App., las lesiones si concordaron con lo esperado. Además se logró aislar a ambos agentes. Se sugiere realizar nuevamente el experimento con un mayor número de animales, prolongando el tiempo de observación, probando con otra cepa de Rubulavirus porcino de mayor virulencia e integrando técnicas más específicas como Inmunohistoquímica y PCR.

INTRODUCCIÓN

La porcicultura nacional vive actualmente un panorama de grandes retos, desafíos económicos y de productividad; situación que ha propiciado la desaparición de pequeños y medianos productores, resultado de una incapacidad económica para tecnificarse y modernizar sus instalaciones.^{32, 35}

A pesar de que en la década de los 90 la Secretaría de Agricultura reportó un leve crecimiento en la porcicultura nacional de alrededor de un 3% anual, la actividad porcícola ha resentido fuertemente el incremento en los costos de producción, la excesiva entrada de productos sustitutos al país, el estancamiento de los precios de venta y la subsiguiente contracción del margen de utilidad. Actualmente y específicamente en el año 2000 se reportó un leve incremento en la producción el cual se ha logrado gracias a la inversión en alternativas tecnológicas que han mejorado la productividad.³²

No obstante el mejoramiento de los parámetros productivos y la innovación tecnológica que han adoptado los porcuicultores nacionales con la finalidad de mantenerse en condiciones de productividad similares a las de nuestros socios comerciales, los productores tienen que enfrentar la carencia en el abasto de insumos, los sistemas de comercialización con exceso de intermediarios y el costoso servicio financiero, obstáculos que minimizan cualquier nivel de competitividad que se pueda obtener mediante la inversión.^{32, 35}

A pesar del panorama tan negro, la porcicultura en México tiende hacia una integración vertical cada vez más intensa: con una orientación empresarial y a la adopción de una tecnología de punta. Este cambio en la producción porcina tiene la finalidad de aumentar la exportación de carne y alcanzar niveles de sanidad internacionales que nos permitan mayor producción y exportación.³²

Importancia de las enfermedades respiratorias.

La enfermedad respiratoria es, junto con la entérica, un fenómeno que cuando afecta al sector porcino acarrea graves consecuencias económicas. Es bien conocido que las enfermedades respiratorias son las más comunes y costosas en cerdos de inicio a finalización.⁵⁶

Las enfermedades respiratorias se observan en forma de neumonía y pleuritis. La amplia gama de agentes bacterianos y virales que causan estas enfermedades pueden actuar como microorganismos primarios o como agentes secundarios; sin embargo, algunos de estos agentes etiológicos son de gran importancia por sí mismos debido a su prevalencia, impacto económico o implicación en programas de erradicación nacional.⁵⁶

Los agentes primarios de mayor importancia son: El virus del síndrome reproductivo y respiratorio porcino (PRRS), *Mycoplasma hyopneumoniae*, *Actinobacillus pleuropneumoniae*, virus de la influenza porcina y el virus de la enfermedad de Aujeszky. Por otra parte, son numerosos los patógenos comunes que se pueden presentar en forma de infecciones secundarias tales como las pasteurelas, los estreptococos y los estafilococos, siendo el complejo respiratorio porcino (CRP) el proceso respiratorio más importante en la actualidad.⁵⁶

Tabla 1. Clasificación de las bacterias involucradas en procesos respiratorios:

PATÓGENOS PRIMARIOS	PATÓGENOS SECUNDARIOS	BACTERIAS PRESENTES EN EL HOSPEDADOR
<i>M. hyopneumoniae</i>	<i>Pasteurella multocida</i>	<i>Salmonella choleraesuis</i> var. <i>Kunzendorf</i>
<i>A. pleuropneumoniae</i>	<i>Streptococcus suis</i>	<i>Actinobacillus suis</i>
<i>Bordetella bronchiseptica</i>	<i>H. parasuis</i>	<i>Actinomyces pyogenes</i>
	<i>M. hyorhinis</i>	

Stevenson, G. W. 1998.

Tabla 2. Clasificación de los virus dentro del CRP.

PRIMARIOS	OPORTUNISTAS	RARAMENTE ASOCIADOS A PATOLOGÍA RESPIRATORIA
VPRRS	Citomegalovirus porcino (PCMV)	Paramixovirus
VPRC		Virus de la encefalomiocarditis
ADV	Circovirus porcino (PCV) ¿Primario?	Virus de la encefalomielitis hemoaglutinante
SIV		Adenovirus

Halbur, P.G. 1998.

La mayor parte de los autores, parecen coincidir en sus conclusiones que el SIV, VPRRS y *Mycoplasma*, son los patógenos primarios más importantes en este síndrome. Así mismo, *M. hyopneumoniae* parece tener un especial papel en el CRP. Thacker, E. (1998), concluye que la presencia de *M. hyopneumoniae* con inaparente enfermedad clínica, puede favorecer la severidad de una infección por PRRS, que por si sola no hubiera dado mayores problemas.⁵⁶

Las enfermedades respiratorias son tan frecuentes que por ejemplo, en un estudio realizado con cerdos al sacrificio en los Estados Unidos en 1984, se estimó que la incidencia de neumonía por micoplasma en granja era casi del 100 % y esto fue confirmado con un segundo estudio a principios de la década de los 90. Por otra parte, varios estudios serológicos realizados en esa misma década indicaban que *Actinobacillus pleuropneumoniae* se encontraba presente en aproximadamente el 60% de todas las granjas porcinas de ese país.⁹

Gracias a los diferentes estudios que se han realizado a lo largo de los años en el continente europeo, ha quedado claro que existen diferencias significativas en la prevalencia de neumonía entre las diferentes pjaras de engorda. En un estudio publicado en 1991 se reportó que la mayor prevalencia encontrada fue una granja con 25% de casos de pleuresia, en

comparación con el 1.5 % de la menos afectada. Aún en los casos muy severos de pleuresia, se encontraron diferencias entre las piaras. Estos resultados demuestran que deben existir factores asociados específicamente a las granjas, capaces de explicar las diferencias entre ellas, subrayando el hecho de que las enfermedades respiratorias pueden tener una etiología multifactorial.⁵⁶

Entre mayo de 1996 y mayo del 2001, el Comité Danés de Producción porcina analizó 3,055 explotaciones libres de *Actinobacillus pleuropneumoniae* serotipo 2 y 931 libres de *Mycoplasma hyopneumoniae*. Se comprobó que en promedio se infectaban cada año un 2.6 % de explotaciones libres de *A. pleuropneumoniae* y un 11.9 % de las explotaciones libres de *M. hyopneumoniae*.⁴⁶

Varios factores contribuían a aumentar el riesgo de infección. Cuando se doblaba la densidad de cerdos, considerando como tal el número de cerdos en relación con la distancia a explotaciones vecinas, el riesgo de infección se incrementaba en un 50%.

El tamaño de la explotación también influyó. Cuando se doblaba el número de cerdos en la explotación, el riesgo de infección se incrementaba en un 12-13%. Concretamente para *A. pleuropneumoniae*, el riesgo de infección en explotaciones de más de 500 cerdas era tres veces mayor que en las que tenían menos de esta cifra. Para *M. hyopneumoniae* se comprobó que en explotaciones que engordaban más de 800 cerdos al año, el riesgo era 2.5 veces superior que para las explotaciones por debajo de este tamaño.

La incidencia de *A. pleuropneumoniae* y *M. hyopneumoniae* no se vio influenciada por el número de visitas a la explotación por parte de veterinarios, personal etc., ni por si había personal adicional contratado. Tampoco influía el tipo de alimentación, tanto si era comprada o elaborada en la explotación, como si era líquida o seca.⁴⁶

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 primario. Por

lo tanto, resulta muy difícil estimar las pérdidas en todos los casos. La presencia de neumonía y pleuresía en el hato provoca una marcada reducción en la ganancia de peso y en el crecimiento de los animales, sobre todo si se presenta durante el periodo de finalización. Estos efectos obligan a los productores, médicos veterinarios e investigadores a buscar nuevas opciones que permitan prevenir las enfermedades respiratorias tanto en granjas como en poblaciones regionales.

En un estudio controlado y con réplicas, Cline *et al.* (1992), demostraron que todos los cerdos producidos bajo el sistema de todo-dentro/todo-fuera presentaron menos lesiones neumónicas al sacrificio (4.1 % vs. 15.1% de pulmones afectados), requirieron 12 días menos para llegar a los 104 Kg. de peso corporal y 0.15 Kg. menos de alimento para ganar 1 Kg. de peso que los animales producidos en instalaciones de flujo continuo.⁹

Otras tecnologías que se han adoptado para reducir la presencia de enfermedades respiratorias son las de producción en tres sitios y destete precoz segregado (SEW), en esta última es necesario aplicar vacunas y medicamentos adicionales a las cerdas, así como la administración de medicamentos a los cerdos producidos mediante este método.²

Clark *et al.* (1994), utilizando la técnica de SEW de 14 días, obtuvieron cerdos libres de toda enfermedad respiratoria con excepción de *Streptococcus suis* y *Haemophilus parasuis*. No era posible aislar *H. parasuis* si los cerdos se habían tratado con antibióticos antes y después del destete a la edad citada. Cuando los cerdos se destetaban a menos de 21 días pero a más de 14, fue posible aislar algunos agentes causales de enfermedades respiratorias (*Bordetella bronchiseptica*, *Pasteurella multocida* y tal vez *M. hyopneumoniae*) de algunos de estos animales. En cerdos destetados entre los 14 y 21 días de edad que han presentado seroconversión durante la fase de crecimiento, las enfermedades correspondientes no se han presentado clínicamente y no han afectado la tasa de crecimiento en aquellos casos en que los cerdos han estado sometidos a buenos sistemas de manejo. En raras ocasiones, cuando

se presentaron enfermedades respiratorias, el tratamiento oportuno fue efectivo, presentando un mínimo de mortalidad y de reducciones del rendimiento.⁹

La edad al destete aplicando la técnica de destete precoz variará dependiendo de las enfermedades específicas que vayan a controlarse; además, se debe considerar que la limpieza, la desinfección y otras medidas de bioseguridad son indispensables para mantener el buen estado de salud de los cerdos y la producción todo-dentro/todo-fuera de los cerdos por cuarto, por edificio o por sitio, es indispensable. Con esta técnica, sueros sometidos a pruebas en el laboratorio para detectar anticuerpos contra *A. pleuropneumoniae* o *M. hyopneumoniae* han resultado negativos.⁹

Con los nuevos sistemas de producción, existen enfermedades que pierden protagonismo frente a otras que emergen. A continuación se presenta una tabla comparativa entre agentes actuales frente a los tradicionales.

Tabla 3. Agentes tradicionales y actuales.

Agentes Tradicionales	Microorganismos Actuales
<i>Mycoplasma hyopneumoniae</i>	<i>Streptococcus suis</i>
<i>Actinobacillus pleuropneumoniae</i>	<i>Haemophilus parasuis</i>
VPRRS	<i>Actinobacillus suis</i>
Virus de influenza porcina	<i>Staphylococcus hyicus</i>
<i>Pasteurella multocida</i>	VPRRS
<i>Bordetella bronchiseptica</i>	<i>Brachyspira pilosicoli</i>
Adenovirus	Circovirus porcino ("síndrome del adelgazamiento post-destete del cerdo")

Relación entre el medio ambiente y la presencia de enfermedades respiratorias en las granjas porcinas.

Las enfermedades respiratorias generalmente son el resultado de un complejo multifactorial y no sólo multietiológico; por lo que además de los microorganismos, existen otros elementos que pueden estar involucrados en la presentación de la enfermedad, siendo en algunos casos considerados como elementos inmunosupresores.^{2, 46}

Un análisis de la relación que existe entre el ambiente de una granja y la incidencia de neumonía y pleuresia, ha permitido identificar varios factores de riesgo que pueden contribuir a la presencia de brotes de enfermedades respiratorias. de tal manera que la eliminación o mejoramiento de estos factores puede cambiar el estado de salud de los cerdos.⁵⁷

La optimización del medio ambiente ofrecido a los cerdos para prevenir los brotes de enfermedades respiratorias significa satisfacer los requerimientos del "balance de la salud". Este concepto incluye a las fuerzas medio ambientales para poner en equilibrio dos factores opuestos del estado de salud: el poder de resistencia del animal contra los patógenos y la presión de infección por los diferentes gérmenes nocivos. La resistencia específica depende en gran medida del ambiente en que se encuentren los cerdos y se considera que alcanza su máximo nivel si este ambiente es cómodo y de bajo estrés. La presión de la infección se puede controlar mediante la prevención de la entrada de agentes patógenos a la granja y mediante la aplicación de altos estándares de higiene.⁵⁷

Algunas acciones que deben ser consideradas para mantener un alto estado de salud en los animales de engorda son las siguientes:

1. Todos los cerdos para la engorda deben proceder de un solo criador.
2. Se debe practicar el sistema todo-dentro/todo-fuera.
3. Emplear compartimentos pequeños de menos de 100 cerdos.
4. No hacer movimientos de cerdos durante el período de engorda.

5. Procurar instalaciones con pisos adecuados para los animales.
6. Establecer un sistema de entrada indirecta de aire
7. Colocar sistemas de calefacción.
8. Ventilación mecánica.
9. Mantener una densidad normal de cerdos (0.7 m² por cerdo)
10. Establecer procesos eficientes de limpieza y desinfección.
11. Crear un programa estricto de prevención de la entrada de enfermedades a la granja.⁵⁷

Para asegurar la alta resistencia a las enfermedades es muy importante albergar a los cerdos en un ambiente con clima confortable. Esto significa proporcionarle suficiente aire fresco dentro de la construcción, bajo todas las circunstancias, previendo la alta humedad relativa, la elevada concentración de gases nocivos, agentes patógenos y polvo. Aunque en el exterior haga frío o calor siempre existe la necesidad de la ventilación. Bajo condiciones de frío será necesaria la calefacción para calentar el aire hasta los niveles de confort y cuando la temperatura exterior sea alta se requerirá de ventilación para eliminar el calor del interior de las instalaciones. Estas variaciones de los requerimientos de ventilación sólo se pueden controlar a través de sistemas mecánicos en donde existen controles automáticos para regular la velocidad de los ventiladores, dependiendo de la temperatura interna. Aun con estos sistemas automatizados es muy difícil evitar que exista un clima inadecuado en el interior; por lo que es importante mantener un sistema de entrada indirecta de aire que permita en tiempos de frío precalentarlo antes de que este se ponga en contacto directo con los animales.^{16, 57, 58}

La prevención, control y solución de las enfermedades respiratorias implica algo más que sólo prevenir la entrada de agentes infecciosos e involucra un correcto balance entre los diferentes factores que intervienen durante el proceso de producción por lo que es necesario crear un verdadero plan estratégico de desarrollo formado por factores que mantengan la productividad:

- Pie de cría.
- Programas de alimentación.
- Programas de medicina de producción (prevención, control y erradicación de enfermedades y segregación a edad temprana).
- Programas adecuados de manejo.
- Diseños adecuado de construcciones.
- Programas continuos de entrenamiento de personal.

Todo este plan nos permitirá producir con menor costo, ya que reducirá la cantidad de medicamentos que son utilizados en una granja cuando ésta presenta graves problemas de enfermedades respiratorias.^{2, 16, 57, 58}

Interacción entre microorganismos

Como se mencionó anteriormente, existe un gran número de microorganismos que tienen la capacidad de causar o exacerbar enfermedades respiratorias en los cerdos. La adopción de sistemas de producción intensivos también ha contribuido al desarrollo de procesos sistémicos, los cuales son causados por múltiples microorganismos que actúan juntos más que individualmente.⁷

Las nuevas técnicas diagnósticas nos revelan nuevos patógenos y una compleja red de microorganismos e interacciones entre ellos que nos han orillado a describir a las enfermedades como síndromes, lo que dificulta el llegar a un diagnóstico certero. El dilema del diagnóstico para el veterinario no es solo identificar qué patógenos están presentes, sino determinar el momento de cada infección.

La interacción entre agentes virales y bacterianos que se presenta en las neumonías en el cerdo tiene un efecto sinérgico más claro cuando los microorganismos involucrados son dos agentes primarios.^{7, 8}

Los primeros indicios de que pudiera existir una cooperación entre estos microorganismos en las neumonías del cerdo en México se dieron gracias a los trabajos de Garza y col. al estudiar el comportamiento de los cerdos ante la primer vacunación contra la fiebre porcina clásica (FPC) y al comprobar el efecto de leucopenia a niveles casi patológicos que producían algunas vacunas poco atenuadas, aunado a una posterior recuperación. Esto sugirió a Pijoan y Ochoa experimentar con el virus vacunal de FPC y *Pasteurella multocida*, demostrando una marcada sinergia entre el virus y la bacteria. A partir de entonces se han efectuado varios experimentos con la finalidad de determinar la posible cooperación entre virus-bacteria o bacteria-bacteria en los procesos neumónicos del cerdo, encontrándose las siguientes interacciones *Mycoplasma-Pasteurella*, *Mycoplasma-Actinobacillus*, Adenovirus porcino-*M. hyopneumoniae*, enterovirus tipo 2-*P. multocida*, virus de la Enfermedad de Aujeszky (VEA)-*P. multocida* y VEA-*A. pleuropneumoniae*.¹⁷

¹⁸ Actualmente se sabe que el VEA es capaz de dañar algunos de los mecanismos de defensa pulmonar más importantes, por lo que no es sorpresa que aunque el virus no produzca enfermedad clínica manifiesta, su presencia aumenta el daño producido por *A. pleuropneumoniae*.
7, 8, 17, 28, 29

La neumonía enzoótica es un ejemplo de interacción, ya que su presentación ocurre cuando se combina *M. hyopneumoniae* con bacterias oportunistas tales como *P. multocida*, *Bordetella bronchiseptica*, *Streptococcus suis*, *Haemophilus parasuis* o *Actinomyces pyogenes*. Estas infecciones mixtas resultan en retraso, reducción de la ganancia de peso (16-30%) y aumento en la conversión alimenticia (14-20%).^{7, 8, 55}

Otro microorganismo que se ha visto seriamente involucrado en las interacciones entre agentes virales y bacterianos es el VPRRS el cual se caracteriza por inducir lisis celular y necrosis en macrófagos alveolares. Se cree que la lisis y disminución de la función de los macrófagos alveolares explican la reducción de la capacidad del tracto respiratorio del cerdo para defenderse de otros patógenos respiratorios, especialmente bacterias.^{3, 55}

Consecuentemente, se ha sugerido que el VPRRS es el patógeno primario que inicia el CRP y las bacterias sirven como invasores secundarios u oportunistas en la patogenia del mismo. Esta hipótesis concuerda con el paradigma comúnmente conocido de que los virus predisponen al hospedador a infecciones bacterianas secundarias.^{7,55}

Por otra parte, en un estudio reciente se pudo demostrar que la infección con *M. hyopneumoniae* incrementa la severidad y duración de la neumonía inducida por el VPRRS, ya que cerdos infectados con ambos patógenos, con un mínimo de lesiones neumónicas inducidas por *M. hyopneumoniae*, presentaron una neumonía significativamente más prolongada que cerdos libres de *M. hyopneumoniae* e infectados con el VPRRS; lo que sugiere un efecto sinérgico entre los dos patógenos. Los mecanismos por los cuales *M. hyopneumoniae* exacerba la neumonía por VPRRS son desconocidos.^{3,48,55}

El caso más claro de la interacción entre microorganismos y el más extensamente descrito es el ahora llamado complejo respiratorio porcino (CRP), que se caracteriza por un crecimiento lento, disminución de la eficiencia alimenticia, anorexia, fiebre, tos y disnea. Originalmente se le designó como la barrera de las 18 semanas, pues se consideraba que afectaba principalmente a cerdos en crecimiento-finalización, pero actualmente se han incluido en este complejo cerdos de destete. Este síndrome ha cobrado importancia en sistemas de producción con destete temprano, destete temprano segregado y mezcla de cerdos en destete segregado de diferentes granjas.¹²

Se estima que el CRP afecta 10 millones de animales anualmente en los EE.UU., con un impacto económico de 40 millones de dólares en el mismo período. Los laboratorios de diagnóstico han aislado, a partir de casos de CRP, varios patógenos entre los que se incluyen el virus del síndrome reproductivo y respiratorio porcino (VPRRS), *M. hyopneumoniae*, virus de influenza porcina (VIP), *A. pleuropneumoniae*, *P. multocida* y virus de la Enfermedad de Aujeszky. De estos patógenos, el VPRRS, *M. hyopneumoniae* y el VIP son los más

frecuentemente aislados.³ La mayoría de los casos severos de CRP examinados recientemente en el laboratorio de diagnóstico veterinario de la Universidad Estatal de Iowa (LDV-UEI) fueron positivos a VPRRS y tuvieron lesiones microscópicas típicas de infección por *M. hyopneumoniae*. El CRP parece haber incrementado en severidad no obstante el uso difundido de vacunas comerciales contra el VPRRS y *M. hyopneumoniae*.^{3, 12, 46, 55}

Se considera que este problema se origina porque en el destete temprano se producen cerdos con diferente estado sanitario e inmunológico, unos infectados y otros no infectados. Y cuando declinan los anticuerpos maternos los gérmenes se transmiten horizontalmente a partir de los cerdos infectados. Se ha observado que el destete temprano segregado produce gran cantidad de animales negativos a numerosos patógenos, pero se requiere únicamente de un cerdo portador para desencadenar la infección.¹²

Hasta ahora no están completamente entendidos todos los factores y mecanismos que determinan la enfermedad y la edad de presentación en una granja. Como ya vimos, hay una gran diversidad de organismos involucrados y numerosas cepas de éstos (*S. suis* 29 tipos, *H. parasuis* 15 tipos, VPRRS varios tipos).⁴⁹

Se consideran agentes primarios la combinación de uno o más de los siguientes agentes:

1. Virus del PRRS
2. Virus de influenza porcina
3. *Mycoplasma hyopneumoniae*

En México se han identificado otros agentes virales asociados al problema como son: el Rubulavirus del Ojo Azul y virus de la enfermedad de Aujeszky.¹²

Dentro de los agentes secundarios se incluyen a las siguientes bacterias

1. *Haemophilus parasuis*
2. *Pasteuralla multocida*
3. *Bordetella bronchiseptica*

4. *Streptococcus suis*
5. *Actinobacillus suis*
6. *Actinomyces pyogenes*
7. *Actinobacillus pleuropneumoniae*
8. *Salmonella choleraesuis*⁴⁵

Estos dos últimos son también patógenos primarios, pero se asocian con los agentes primarios arriba mencionados exacerbando los signos clínicos y las lesiones. También se ha sugerido que la migración de *Ascaris suum* puede contribuir.^{12, 49}

Se considera que la infección bacteriana secundaria es la principal causa de mortalidad y retraso en el crecimiento de los animales.

En Europa, el CRP presenta algunas diferencias con respecto al que se desarrolla en los EUA, aún cuando involucran casi los mismos microorganismos:

- **Edad de los cerdos afectados:** parece ser que uno de los principales problemas en los países europeos es un síndrome que involucra enfermedad respiratoria y agotamiento al final del destete y principio de la engorda, más que en cerdos de finalización.⁴³
- **Poderosos contribuyentes:** el virus de la enfermedad de Aujeszky está casi erradicado de los EUA (sólo un caso de enfermedad de Aujeszky ha sido detectado en Minnesota hasta abril de 2002) pero es enzoótico en varios países mediterráneos y de Europa Occidental. Por otro lado, PCV2 se considera un patógeno importante en varios países europeos, contribuyendo a la enfermedad desgastante y respiratoria, mientras que sigue debatiéndose su importancia en los EUA.⁴⁶
- **Sistemas de producción:** mientras que la producción en EUA está basada principalmente en sistemas multi-sitio, con gran cantidad de hembras en sitio uno, Europa aún mantiene operaciones de ciclo completo con un moderado número de

hembras por granja (probablemente con la excepción de España, cuyos sistemas de producción son relativamente similares a los de EUA).⁴⁶

Por supuesto, se pueden mencionar otras diferencias cuando se compara la situación europea y la americana: diferencias en patogenicidad aún en cepas del mismo microorganismo (PRRSV es un claro ejemplo), en la disponibilidad de productos farmacéuticos y biológicos, en factores nutricionales, instalaciones, etc., lo cual probablemente también juega un papel en las diferencias de las presentaciones clínicas de los complejos.

El complejo respiratorio en Europa se refiere a una condición clínica caracterizada por enfermedad respiratoria y desgastante, con presentación en destete tardío y engorda. Esta definición está menos restringida que la original y se pueden encontrar una multitud de combinaciones de agentes etiológicos bajo condiciones de campo. Los microorganismos involucrados con mayor frecuencia son PRRSV, PCV2, VEA y VIP dentro de los virales, *M. hyopneumoniae*, *P. multocida*, *H. parasuis* y *A. pleuropneumoniae* en los bacterianos.^{3, 46, 49, 59}

PLEURONEUMONÍA CONTAGIOSA PORCINA.

La pleuroneumonía contagiosa porcina (PCP) es una de las enfermedades respiratorias del cerdo más importantes de nuestro país. se presenta en forma aguda o crónica y en cerdos en crecimiento de manera severa y contagiosa. En brotes iniciales puede afectar a la población adulta. La enfermedad tiene un desarrollo irregular, diseminándose rápidamente y produciendo en los cerdos susceptibles una alta morbilidad y mortalidad. Afecta la conversión alimenticia de los animales infectados crónicamente y una vez establecida en una piara el único signo observable puede ser la reducción de los índices de crecimiento, causando grandes pérdidas económicas al productor.^{5, 14, 54}

Etiología.

El causante de la pleuroneumonía contagiosa porcina es el *Actinobacillus pleuropneumoniae*, cocobacilo. Gram negativo, inmóvil con cierto pleomorfismo que presenta formas filamentosas ocasionales cuando las condiciones de crecimiento no son las adecuadas o cuando se trata de cultivos de más de 24 h. Presenta cápsula de 0.5 a 1.5 μm de largo y 0.3 de ancho, no produce esporas y posee fimbrias citoadherentes. Encuadrada taxonómicamente dentro de la familia *Pasteurellaceae*, subgrupo 3. del grupo 5 del Manual Bergey, comparte ubicación con los géneros *Pasteurella* y *Haemophilus*.^{5, 54}

Este microorganismo se caracteriza por la variedad y potencia de sus factores de virulencia y es tal su capacidad patógena que puede actuar como agente primario desarrollando el cuadro de pleuroneumonía o intervenir con otros agentes respiratorios de tipo bacteriano o viral en cuadros mixtos polimicrobianos, lo que complica aun más su conocimiento, pues en los mismos se suceden interacciones y sinergias muchas veces de difícil comprensión.⁴⁰ Es aerobio facultativo, que precisa de una pequeña concentración de CO_2 (5 a 10%) en los aislamientos primarios, aunque si se hacen subcultivos puede crecer en su ausencia. (Elias F.) El

porcentaje citosina y guanina de su ADN es de 42 moles % y su cepa tipo es la Shope 4074= ATCC 27088.^{21,54}

De este microorganismo se reconocen dos biotipos en función a su dependencia del factor sanguíneo V (NAD: Dinucleótido Adenin Nicotinamida) para su crecimiento *in vitro*. El biotipo I engloba un total de 15 serotipos dependientes de este factor y cuyas diferencias se basan en antígenos capsulares, denominados mediante números cardinales arábigos consecutivos, si bien dentro del serotipo 5 y más reciente dentro del 1 se han descrito dos subtipos que se diferencian mediante las letras a y b. El biotipo II, por su parte, reúne las cepas de *A. pleuropneumoniae* que no necesitan factor V para su crecimiento.^{5, 14, 21, 23, 33}

Para el crecimiento de este microorganismo se utiliza habitualmente agar chocolate, agar PPLO o el agar sangre. Ya que las cepas del biotipo I son incapaces de sintetizar el factor V, en todos los casos el medio de cultivo ha de proporcionar el factor de crecimiento. El agar chocolate se emplea suplementado con sustancias favorecedoras de crecimiento (factor V, complejos vitamínicos y minerales) y, si es preciso con fines selectivos, algunos antibióticos (bacitracina sola o combinada con cloxacilina o lincomicina), antimicrobianos no antibióticos (cristal violeta, etc.) y antifúngicos (nistatina). Las colonias que se aprecian al cabo de 48 h son pequeñas (entre 1 y 2 mm) redondeadas, opacas y de color gris. Dentro de ellas se pueden diferenciar dos tipos: unas, de aspecto céreo, que se adhieren al asa de siembra y presentan sobre el medio una cierta elevación redondeada y otras de aspecto brillante, más aplanadas. El agar PPLO (de "pleuropneumoniae like-organisms") es otra opción de uso muy común. Al medio comercial se deben incorporar, como en el caso anterior, diversos factores de enriquecimiento (extracto fresco de levadura al 10 %, suero de caballo al 5%, glucosa al 0.1% y factor V al 0.025%), que permiten la obtención de colonias al cabo de 6 h, dotadas de una cápsula bien desarrollada, cuya presencia se puede verificar por la indiscencia de las colonias cuando se observan a la luz solar. En virtud de la rapidez de crecimiento y de la

buena expresión de la cápsula bacteriana el medio PPLO es uno de los preferidos para la tipificación y preparación de antígeno.^{5, 14, 21, 54}

Si se utiliza el agar sangre, se deberá añadir al medio base un 5 % de sangre, por lo general de equino u ovino, aunque también se ha utilizado la de otras especies con buenos resultados. Se trata de un medio de cultivo apropiado siempre y cuando se inocule transversalmente una bacteria productora de factor V; por lo general se eligen para este fin cepas de *Staphylococcus aureus* o de *Staphylococcus intermedius*. Otra posibilidad es la colocación de discos impregnados con el citado factor, comercializados en la actualidad por distintos laboratorios.^{5, 14, 21} Hay autores que se inclinan por la incorporación del factor V directamente al medio de cultivo. El crecimiento colonial se da después de 18 h, caracterizándose por colonias pequeñas que se observarán únicamente en las proximidades de la estría trazada, o bien alrededor de los discos colocados; la presencia de un halo de hemólisis más o menos evidente se da en función del origen de la sangre (de mejor a peor: bovino, ovino, humano, conejo, gallina y equino).^{14, 21, 54}

Otros medios de cultivo menos comunes son: agar proteosa-peptona, agar McConkey + BHI, agar o caldo BHI con telurito potásico al 0.005%, agar o caldo TSA y agar o caldo Sawata. En todos ellos será necesario aportar el factor de crecimiento V. Las colonias en agar infusión cerebro corazón (BHI) con la cepa nodriza, suelen ser muy pequeñas (menores a un milímetro), blanquecinas, brillantes y mucoides; las colonias en agar BHI suplementado con extracto fresco de levadura o NAD se observan de mayor tamaño.⁵ Ya sea en medio de cultivo sólido o líquido los microorganismos no sobreviven más de una semana, por lo que se hace necesario realizar subcultivos cuando se quiere mantener el microorganismo más de ese tiempo; su supervivencia es mejor a temperatura ambiente que sometida a refrigeración a 4° C. Para su conservación durante periodos prolongados se recurren a la liofilización de la bacteria o a la congelación a -80° C suspendida en leche descremada con glicerina.

Son varias las especies del género *Haemophilus*, que como *Actinobacillus pleuropneumoniae* requieren factor V y que afectan al cerdo, por lo que la presencia de un satelitismo evidente no basta para caracterizar la especie que nos ocupa y se hace necesaria la utilización de pruebas bioquímicas. De entre todas, son destacables la potente actividad ureasa β – galactosidasa y fosfatasa alcalina; su capacidad hemolítica, que se puede ver exaltada sobre agar sangre de bovino u ovino por la acción sinérgica de la β – toxina de la cepa de *S. aureus* sembrada perpendicularmente (reacción CAMP positiva), reduce los nitratos a nitritos, produce SH_2 y también ácido a partir de diversos azúcares ^{21, 23, 54}

Tabla 4. Principales actividades bioquímicas de *A. pleuropneumoniae*

Reacciones químicas	Resultados
Requerimiento de factor V	+
Indol	+
Urea	+
Ornitin descarboxilasa	-
Arginin dihidrolasa	-
Hemólisis	+*
Hemaglutinación	-
Reacción de Camp	+
β -galactosidasa	+
α - fucosidasa	-
Catalasa	Variable
Fosfatasa alcalina	+
α -galactosidasa	+
α -glucosidasa	-
β -glucosidasa	-
α -manosidasa	-
β -xilosidasa	-
Lisina descarboxilasa	-
Oxidasa	Variable
SH_2	+
Reducción de nitratos	+
Reducción de nitritos	+
Producción de ácido a partir de la glucosa	+
Producción de gas a partir de la glucosa	-

*Aunque por lo general *A. pleuropneumoniae* es una bacteria hemolítica, también se han descrito algunos casos de cepas no hemolíticas.

Tabla 5 Resumen de las características bioquímicas que permiten diferenciar *A. pleuropneumoniae* de otros patógenos respiratorios porcinos pertenecientes al género *Haemophilus* que podrían inducir a confusión de cara a la identificación, debido a su dependencia del factor V.

Características Bioquímicas	<i>Actinobacillus pleuropneumoniae</i>	<i>H. parasuis</i>	<i>Haemophilus</i> taxón "minor group"	<i>Haemophilus</i> taxón C
Ureasa	+	-	+	-
Hemólisis de glóbulos rojos de ovino	+	-	-/ débil	-
CAMP	+	-	-	-
Producción de ácido a partir de :				
Manitol	+	-	-	-
Lactosa	variable	-	+	-
D-xilosa	+	-	-	-
D-ribosa	+	+	-	-
Composición de citosina + guanina (% mol)	42' 1	41' 5	39' 6	42
*Aunque por lo general <i>A. pleuropneumoniae</i> es una bacterias hemolítica, también se han descrito algunos casos de cepas no hemolíticas.				

Mediante microscopía electrónica recientemente se ha puesto de manifiesto la presencia de fimbrias cuando se manejan cultivos recientes que desaparecen más allá del tercer subcultivo. Las fimbrias adoptan disposición peritrica y presenta gran variabilidad, con diámetros comprendidos entre 2 y 7 nm y longitudes entre 0.5 y 6 μm .^{21, 54}

En la cápsula radican antígenos específicos y en virtud del tipo de antígeno capsular se han establecido los 15 serotipos dentro del biotipo I. El antígeno capsular de *A. pleuropneumoniae* de naturaleza termolábil ha sido uno de los más estudiados, habiéndose demostrado desde

los primeros momentos su gran heterogeneidad en las diferentes cepas aisladas. Esta estructura de acuerdo con los serotipos presenta un grado de desarrollo diferente, por ejemplo en los serotipos 1, 3 y 5 se observa una estructura bien definida y en los serotipos 2 y 7 aparece sólo como una capa discontinua alrededor de la pared celular. Han sido abundantes los estudios realizados para caracterizar el material capsular de *A. pleuropneumoniae*, habiéndose comprobado que su composición química varían según los serotipos, por lo que se han establecido tres grandes grupos de estructura capsular. El primero de ellos incluye los serotipos 5a, 5b y 10 y consiste en la secuencia repetitiva de azúcares enlazados por uniones glicosídicas; el segundo responde al esquema de polímeros de elevado peso molecular, del tipo del ácido teicoico, donde los azúcares están unidos mediante enlaces fosfodiéster (serotipos 2, 3, 6, 7, 8, 9 y 11), el tercero es similar al anterior, pero con polímeros mucho más inestables al estar unidos por medio de enlaces fosfato fácilmente hidrolizables; esta última estructura corresponde a la cápsula de los serotipos 1, 4 y 12. El espesor de la cápsula se ha calculado de los 10 primeros serotipos del biotipo I en valores comprendidos entre 80 y 230 nm.^{21, 31, 54}

En relación con el antígeno O se han descrito reacciones cruzadas entre los serotipos 1, 9 y 11; 3, 6 y 8, 4 y 7, todos ellos dentro del biotipo I. También se han señalado patrones de lipopolisacárido liso, semirugoso y rugoso, refiriéndose a la presencia completa, parcial o ausencia, respectivamente, de su cadena lateral O. Se ha descrito un patrón liso en los serotipos 2, 4 y 7; semirugoso en los serotipos 1 y 5 (aunque en este último también se han citado variantes lisas) y rugoso en los serotipos 3 y 6.²¹

Con lo que respecta a las proteínas de la membrana externa puede afirmarse que se trata de las moléculas más conservadas en la estructura bacteriana. Algunos investigadores a pesar de reconocer ligeras diferencias incluso dentro de las diversas cepas de un mismo serotipo, consideran que los perfiles correspondientes a los ocho primeros serotipos son muy similares,

destacando tres proteínas 17, 32 y 42 kDa, comunes a todos ellos y a otras especies de los géneros *Actinobacillus* y *Pasteurella* ²¹

Otro antígeno interesante es el localizado en la cadena lateral O del lipopolisacárido bacteriano responsable de la especificidad de serotipo, junto con el antígeno capsular. Los grupos de serotipos 1, 9 y 11; 3, 6 y 8, 4 y 7 en los que la estructura química de la cadena O es similar o incluso idéntica, no pueden ser diferenciados atendiendo a este criterio. Otros componentes estructurales de carácter antigénico son el núcleo interno del lipopolisacárido, las proteínas de la membrana externa o algunas de las proteínas secretadas. Todos estos presentan una estructura química muy parecida en la mayoría de los serotipos de esta especie y en otras próximas pertenecientes a los géneros *Actinobacillus*, *Haemophilus* y *Pasteurella*. ^{20, 21}

Patogenicidad del microorganismo.

La patogenicidad causada por *A. pleuropneumoniae* es un fenómeno multifactorial en el que intervienen diversos productos y estructuras propias del microorganismo. Las exotoxinas son responsables del desarrollo de las lesiones necrótico-hemorrágicas características de la enfermedad y facilitan la invasión de *A. pleuropneumoniae* gracias a sus propiedades antifagocíticas.

A. pleuropneumoniae produce tres exotoxinas diferentes que forman parte de la familia RTX de toxinas formadora de poros. Las toxinas RTX están presentes en numerosas bacterias gram negativas, en las que constituyen importantes factores de virulencia. Las toxinas RTX se denominan Apx. La Apx I y la Apx II son hemolíticas y citotóxicas, mientras que la toxina Apx III posee actividad citotóxica pero no hemolítica. Una característica particular de *Actinobacillus pleuropneumoniae* es que varias cepas producen diferentes combinaciones de dos toxinas. Apx I es fuertemente citotóxica para los macrófagos alveolares y neutrófilos porcinos y es

producida por los serotipos 1, 5, 9, 10 y 11. Apx II es débilmente hemolítica y débilmente citotóxica para los macrófagos alveolares y neutrófilos porcinos. Esta toxina está presente en todos los serotipos excepto en el 10 y 14. La Apx III carece de actividad hemolítica, pero es altamente citotóxica para los macrófagos alveolares y neutrófilos porcinos y la producen los serotipos 1, 2, 3, 4, 5, 6, 8, 9, 11 y 15.^{14,20,23} Las tres toxinas producen una reacción CAMP positiva.^{5,33}

Dado que *A. pleuropneumoniae* es un patógeno respiratorio debe superar las barreras innatas del pulmón constituidas en primera instancia por los macrófagos alveolares y los leucocitos polimorfonucleares. Así pues, las toxinas Apx se cree que pueden contribuir a la capacidad de invasión de este microorganismo como consecuencia de su conocida citotoxicidad frente a los citados tipos celulares. Esta actividad posiblemente se produce extracelularmente (antes de la endocitosis), ya que dosis subclínicas de una preparación cruda de toxinas Apx (incapaces de causar muerte celular) afectan grandemente la capacidad fagocítica de los macrófagos alveolares y dosis altas de toxina inactivan rápidamente los neutrófilos y macrófagos pulmonares porcinos sin que exista estimulación previa de estas células. *A. pleuropneumoniae* es capaz de producir la degeneración inmediata de los macrófagos alveolares porcinos y es probable que este efecto esté dado por las toxinas Apx, ya que se ha observado que las cepas mutantes que no pueden producir las exotoxinas son fagocitadas.²¹ Más recientemente, se ha descrito otra toxina (ApxIV), la cual es producida por todos los serotipos y solamente *in vivo*, aunque su papel en la enfermedad no ha sido descrito. Si bien el papel de esta toxina en la patogenia de la infección no es conocido, animales convalecientes producen anticuerpos contra esta toxina. Las cepas mutantes que no producen todas las toxinas que deben producir (según su serotipo) son menos virulentas. Por ejemplo, las cepas del serotipo 2 europeas son frecuentemente aisladas de casos clínicos mientras que las cepas del mismo serotipo pero aisladas en América del Norte provienen en

general de animales portadores y difícilmente de casos clínicos. En recientes experiencias, se ha demostrado que las cepas americanas no producen una de las toxinas (ApxIII) y son avirulentas cuando se las inocula experimentalmente a los cerdos. Actualmente existen técnicas sofisticadas de laboratorio por ejemplo la técnica de PCR, que permiten rápidamente verificar la presencia de los genes responsables de la producción de dichas toxinas, siendo esto un indicio indirecto de la virulencia de la cepa aislada.^{20 21 53}

Tabla 6. Producción de toxinas (Apx) por los distintos serotipos de *Actinobacillus pleuropneumoniae* (App)

Serotipos de App	Producción de toxinas*		
	ApxI	ApxII	ApxIII
1,5,9,11	Si	Si	Si
2,4,6,8,15	No	Si	Si**
3	No	Si	Si
10,14	Si	No	No
7,12,13	No	Si	No

*Todos los serotipos producen Apx IV

**Las cepas de serotipo 4 recientemente aisladas en Canadá (las primeras en América del Norte) no producen ApxIII (observaciones no publicadas).

Con lo que respecta a otras estructuras del microorganismo, el LPS purificado de *A. pleuropneumoniae* posee propiedades biológicas similares a las de otras bacterias Gram negativas: produce una reacción dérmica de Shwartzman, solidifica los lisados de *Limulus*, es prógero y tóxico para los embriones de pollo e induce blastogénesis linfocitaria. Se ha demostrado que el LPS ejerce un papel fundamental en la adhesión del microorganismo al moco del tracto respiratorio y a los anillos traqueales porcinos.^{5, 21}

El polisacárido capsular de App posee propiedades antifagocíticas y se asume que es el principal escudo protector frente a las defensas humorales del cerdo; ya que cepas con una capsula normal resisten el efecto bactericida mediado por el complemento en presencia de

anticuerpos específicos. El mecanismo de este efecto protector se ha explicado parcialmente al describirse que aunque la cápsula no impide la activación del complemento ni la unión del componente C3 al microorganismo, sí limita la proporción de anticuerpos y del componente C9 que se depositan sobre la superficie bacteriana en suero normal.^{5, 21, 54}

Tabla 7. Factores de virulencia de *A. pleuropneumoniae* y su función (presunta o establecida) en la patogénesis de la pleuroneumonía porcina.⁵³

<p>Toxinas Apx</p> <ul style="list-style-type: none">• Producción de lesiones pulmonares.• Alteración de la respuesta inmune.• Activación de la expresión de citoquinas inflamatorias.• Actividad hemolítica.• Actividad antifagocítica.• Inducción del estallido respiratorio en células fagocíticas. <p>Lipopolisacárido.</p> <ul style="list-style-type: none">• Actuación sinérgica a la de las exotoxinas en la producción de lesiones pulmonares.• Factor de adhesión.• Reducción de la actividad bactericida del complemento por parte de IgG específicas para el lipopolisacárido.• Unión de hemoglobina. <p>Cápsula.</p> <ul style="list-style-type: none">• Propiedades antifagocíticas.• Protección frente a la actividad bactericida del suero. <p>Proteínas de la membrana externa.</p> <ul style="list-style-type: none">• Anticuerpos específicos actúan como opsoninas.• Unión de la transferrina y determinación de la especificidad de hospedador. <p>Fimbrias.</p> <ul style="list-style-type: none">• Factor de adhesión. <p>Hemaglutinación.</p> <ul style="list-style-type: none">• Factor de adhesión. <p>Proteasas.</p> <ul style="list-style-type: none">• Degradación de proteínas del hospedador. <p>Proteína HlyX.</p> <ul style="list-style-type: none">• Regulación génica en condiciones de anoxia. <p>Superóxido dismutasa.</p> <ul style="list-style-type: none">• Protección frente a los radicales libres de oxígeno.

Distribución.

Tras la evolución de la producción porcina hacia sistemas intensivos que combinan razas seleccionadas con sistemas modernos de producción la presencia de enfermedades ha tenido una transformación y la pleuroneumonía contagiosa porcina es un ejemplo de ello. Su aparición coincide con la expansión de la porcicultura intensiva; produciéndose a partir de los años 60 las primeras descripciones importantes de la enfermedad y reconociéndose el agente etiológico en los Estados Unidos de Norteamérica y Argentina. Pero no es hasta los años 70 y sobretodo la década de los 80 donde su difusión es enormemente reconocida, siendo considerada como una de las enfermedades más importantes causante de los problemas respiratorios en cerdos. Actualmente su distribución es mundial, especialmente como consecuencia del comercio de animales vivos.²¹

Existen en la actualidad 15 serotipos o variedades de la misma bacteria. Sin embargo, no tienen todos los serotipos el mismo poder patógeno. En América del Norte, los serotipos más comúnmente aislados de casos clínicos son el 1, 5 y 7. Más específicamente en Canadá, los serotipos 5 y 7 han aumentado su frecuencia de modo considerable en los últimos años, mientras que se observan muchos menos casos debidos al serotipo 1. Todos los serotipos, con la excepción de los serotipos 9, 11, 14 y 15 fueron aislados en América. Una cepa extremadamente infectiva de App serotipo 6/8 ha sido diagnosticada en los últimos años en EUA y Canadá. Dicha cepa produce ciertos signos clínicos y lesiones, con una seroconversión extremadamente elevada. Una cepa parecida se encontró en Brasil últimamente. La distribución de serotipos cambia según el país y en el continente en el que dicho país se encuentra. Datos de pocos países de América Latina han sido publicados, entre ellos, los de Argentina, Chile, Brasil y México. En general, en esos países, los serotipos 1 y 5 son los más prevalentes. En Europa, los serotipos 2, 3 y 9 son los más virulentos. En América del Norte, las granjas de alto nivel sanitario pueden, en ciertas ocasiones, ser libres de todos los

serotipos de App. mientras que la mayoría de las granjas convencionales están infectadas con alguno o varios de los serotipos de baja patogenicidad.^{22 29 54}

Tabla 8. Distribución geográfica de los serotipos de *Actinobacillus pleuropneumoniae*.^{5 20}

Pais	Serotipos prevalentes	Serotipo(s) dominante(s)
Argentina	1, 2, 3, 5, 12	1
Australia	1, 2, 3, 7, 12	1
Bélgica	2, 3, 6, 7, 8, 9, 11	3
Brasil	1, 3, 4, 5, 7, 9	5, 3
Canadá	1, 2, 3, 5, 6, 7, 8, 10, 12	1, 5, 7
Chile	1, 5	1, 5
Croacia	2, 7, 8, 9	2, 9
Checoslovaquia	1, 2, 7	2
Dinamarca	1, 2, 3, 5, 6, 7, 8, 10, 11, 12	2
Francia	2, 3, 7, 8, 9	9
Alemania	2, 3, 4, 5, 6, 7, 9, 10	9, 2, 7
Hungría	1, 2, 3, 5, 6, 7, 9, 10, 11, 12	3, 2, 7
Italia	1, 2, 3, 4, 5, 7	5
Irlanda	3	3
Japón	1, 2, 3, 5, 6, 7, 8, 9, 12	1, 2
Corea	2, 3, 5, 7	5, 2
México	1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9	1, 5
Países Bajos	1, 2, 3, 5, 7, 8, 9, 11	2, 9, 11
Noruega	2	2
Polonia	1, 2, 5, 9	1, 9
España	1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 12	4, 7, 2
Suecia	2, 3, 4	2
Suiza	2, 3, 7, 9	2
Taiwan	1, 2, 3, 5	1, 5
Gran Bretaña	1, 2, 3, 5, 6, 7, 8, 10	2, 3, 8
USA	1, 3, 5, 7, 8, 9	1, 5
Venezuela	1, 7, 4, 2, 3, 6	1

Transmisión del agente causal

El huésped natural de App es el cerdo, aunque ocasionalmente ha sido aislado de otras especies animales. A pesar de que la transmisión de la bacteria por vía indirecta (viento, ropa, herramientas, etc.) es posible, la introducción de la infección en una granja es, en muchos casos, causada por el

ingreso de animales portadores. Ya que el agente causal sólo sobrevive un corto tiempo fuera del cerdo, la transmisión es más efectiva cuando se da por contacto directo entre animales.¹⁹ A cortas distancias la enfermedad se puede transmitir indirectamente de una unidad a otra por el aire.^{20, 21, 27} Se considera en general, que la entrada de cerdas de reemplazo es uno de los puntos clave de la transmisión de la infección. Se piensa que los lechones que nacen de estos animales son excretores de la bacteria en número superior que los que provienen de marranas más viejas. El reagrupamiento de lechones provenientes de distintas maternidades, de las cuales al menos una está infectada, muchas veces es suficiente para provocar un brote de la enfermedad. En los sistemas en rotación, la fuente de infección original son las madres que infectan verticalmente a los lechones. En la engorda, la introducción continua de animales infectados estimula constantemente la infección y los lechones procedentes de granjas con la infección subclínica pueden actuar como portadores e introducir la infección al área de engorda.²⁰

²¹ Los factores de estrés tales como el transporte, el hacinamiento, la mezcla de lechones de diferentes fuentes, los cambios abruptos de temperatura y las corrientes de aire frío incrementan la incidencia de la enfermedad, afectando adversamente la respuesta inmune general. De igual forma, otros padecimientos como PRRS, la enfermedad de Aujeszky e influenza porcina, son estresores que han demostrado ser capaces de aumentar la mortalidad por *Actinobacillus pleuropneumoniae*.^{27, 54}

La pleuroneumonía porcina presenta una clara variación estacional en su incidencia, con recrudescimiento en las épocas frías del año, especialmente en los meses de invierno.

Signología Clínica.

La enfermedad se presenta generalmente en los animales de engorda de 30 a 50 kg, después de las 8 semanas, sin embargo el cuadro clínico se ha mostrado muy variable posiblemente como consecuencia del estatus inmune de la pira y las condiciones de manejo de la granja. Aunque la

frecuencia mayor corresponde a la engorda, los signos clínicos se pueden observar en cualquier edad, con menos frecuencia en el destete y rara vez en animales adultos.²⁰

A. pleuropneumoniae destacó desde el principio, por su virulencia, dando lugar a brotes agudos, con porcentajes de mortalidad muy altos, adaptándose después y originando procesos subagudos y crónicos.¹⁹⁻²² Por tal razón, las formas subagudas y agudas son típicas de las explotaciones limpias, donde el agente se presenta por primera vez, mientras que el curso crónico se relaciona con áreas en donde la enfermedad presenta carácter endémico, una vez que los animales se han recuperado de la forma aguda.

La fase sobreaguda se caracteriza inicialmente por la presencia súbita de apatía generalizada, pérdida de apetito e hipotermia hasta 42° C, síntomas que pueden verse seguidos de vómitos ocasionales, diarrea ligera, tos epistaxis o movimientos masticatorios. En poco tiempo el animal se encuentra tendido en el suelo sin signos respiratorios claros, pero con aceleración manifiesta del pulso y comienzo de falla cardíaca y circulatoria, lo que conduce a una cianosis generalizada de piel y membranas mucosas; al final se presenta disnea intensa y respiración bucal. Poco antes de la muerte suele producirse una descarga sanguinolenta a través de nariz y boca. La muerte suele presentarse en el transcurso de las primeras 24 horas, pero en algunos casos, sobre todo en lechones, ocurre tan rápidamente que no llegan a suceder los síntomas mencionados. En casos aislados se han descrito abortos. Las tasas de morbilidad y mortalidad en las explotaciones se han cifrado en torno al 30%.^{22, 54}

En la forma aguda los animales presentan letargo y anorexia, con una hipotermia ligeramente más baja (alrededor de 40-41° C) que en forma sobreaguda. La sintomatología respiratoria se caracteriza por estornudos ocasionales, tos productiva dolorosa, disnea y respiración abdominal, a los que suele acompañar insuficiencia cardiocirculatoria; no obstante, pueden presentarse formas más leves con tos como único síntoma. Para el caso concreto del serotipo 3 se han descrito cuadros completamente diferentes con artritis, endocarditis o aparición de

abscesos en diversas localizaciones. Después de 24 h los análisis sanguíneos revelan leucocitosis y linfopenia evidente. El curso de la enfermedad dependerá de la extensión de las lesiones y de lo que tarde en instaurarse un tratamiento adecuado. Cualquier evolución es posible, desde la muerte del animal en pocos días hasta el paso a la forma crónica, al cabo de dos a cuatro días de sintomatología; sin embargo lo más normal es que se mantenga unas cinco semanas. Las tasas de morbilidad fluctúan entre 8.5 y 40% y las de mortalidad entre el 0.4 y el 24%. En casos extremos, la mortalidad puede alcanzar a la totalidad de los cerdos más jóvenes y al 25% de los de engorda. En la ausencia de tratamiento, la enfermedad puede provocar hasta 40% de mortalidad, pudiéndose observar en los animales muertos una espuma sanguinolenta en las cavidades nasal y/o bucal, e hiperemia (color rojizo) en la piel del abdomen.^{20,22,27 54}

La forma crónica aparece tras la superación del cuadro agudo. La sintomatología es bastante inespecífica, con registros térmicos que varía entre valores normales y 40-41° C, tos crónica e inapetencia.^{20, 54}

Los síntomas pueden agudizarse en cualquier momento ante la aparición de otras infecciones respiratorias diversas (por *Mycoplasma*, *P. multocida*, *B. bronchiseptica*, etc.) o durante el transporte. En ciertos casos, los animales pueden estar infectados de forma sub-clínica y no presentar ningún síntoma clínico ni lesiones en los pulmones. Este estado de infección es la clave del control de la enfermedad. El problema es que también existen cepas no virulentas que raramente provocan casos clínicos.^{20 22, 54}



Figura 1. Secreción nasal e hiperemia de orejas y vientre



Figura 2. Postración, disnea intensa y respiración bucal

Lesiones.

Las lesiones son específicas del aparato respiratorio, en donde se observa una neumonía fibrinohemorrágica necrosante acompañada de pleuritis serofibrinosa, cuando la presentación es aguda o subaguda. La neumonía suele ser bilateral con la implicación de los lóbulos diafragmáticos, especialmente en su región cráneo-dorsal, aunque en ocasiones también se ven afectados los lóbulos cardíaco y apical. Es característico en los casos sobreagudos que las áreas

afectadas del pulmón aparezcan de color rojo negruzco, firmes con edema interlobulillar. Se observa pleuritis y adherencias hacia tórax y pericardio. Se presenta hidrotórax e hidropericardio y en casos de muerte aguda, la tráquea y los bronquios presentan un exudado mucoso y coágulos de fibrina, además de que los ganglios regionales están aumentados de tamaño y edematosos. En las formas agudas se observan áreas neumónicas, aumentadas de tamaño de color rojo negruzco, sembradas de focos necróticos dispersos, hay edema interlobulillar, pleuritis, adherencias y presencia de fibrina.^{19, 22, 54}

En las formas crónicas se aprecia un engrosamiento de la pleura y en el parénquima pulmonar se pueden observar amplias áreas de necrosis delimitadas por fibrosis y presencia de abscesos, al igual que adherencias pleurales. Una vez resueltas las lesiones pulmonares sólo se aprecia pleuritis focal.

En algunos casos las lesiones no sólo se enfocan al área pulmonar, pudiéndose observar en la cavidad abdominal peritonitis, hepatitis, congestión del bazo y hemorragias capsulares en riñón. Así mismo se ha observado meningoencefalitis purulenta y osteomielitis asociadas a este proceso. Microscópicamente la presentación sobreaguda se caracteriza por fenómenos vasculares como congestión, trombosis vascular, hemorragia y edema, además tiene lugar una exudación de fibrina hacia los septos interalveolares y alvéolos en cuya luz aparecen neumocitos descamados y células inflamatorias. Los septos interlobulillares aparecen muy engrosados con linfangiectasia y edema. En la mucosa de las vías respiratorias, además de congestión, edema y hemorragia, suele producirse degeneración vacuolar del epitelio, con soluciones de continuidad observándose un infiltrado inflamatorio en el tejido conectivo subepitelial.¹⁹ En microscopia electrónica se puede apreciar una tumefacción de los neumocitos I y II debido a la acumulación intracelular de líquido y consiguiente dilatación de algunos de sus organelos.⁵⁴

En la fase aguda se observan focos de necrosis, rodeadas de células inflamatorias mononucleares (linfocitos, macrófagos y células plasmáticas), fibrina, glóbulos rojos y neumocitos en la luz de los

alvéolos. Los septos interalveolares se encuentran engrosados debido a la presencia de células inflamatorias, congestión y edema. Un hallazgo frecuente es la trombosis vascular.^{22, 54}



Figura 3. Hemorragia pulmonar severa



Figura 4. Zonas de pleuritis

Efectos económicos.

La pleuroneumonía porcina es una enfermedad de alto impacto económico en todas partes del mundo y su importancia económica se debe a la elevada mortalidad y el retraso en el crecimiento de los animales, preferentemente en los casos subagudos y crónicos.^{20, 26}

Las pérdidas económicas varían de pira a pira. En las granjas de pie de cría el curso de la enfermedad es muy leve, presentándose sólo unas cuantas muertes y siendo las pérdidas directas muy pequeñas en tales hatos. La severidad de la infección en las unidades de engorda depende

marcadamente del manejo y de factores ambientales. Las pérdidas más importantes se deben a un aumento en la mortalidad, alargamiento en el periodo de engorda, costos en medicamentos y asistencia veterinaria.^{14,27,29,36,54}

Aun cuando se puede demostrar una depresión significativa del crecimiento después de la infección experimental, esta enfermedad parece tener poco efecto sobre el crecimiento diario bajo las condiciones de campo, en las piaras infectadas en forma crónica. Además de las pérdidas para el porcicultor, existen otras que absorben los mataderos debido a un incremento en el porcentaje de pleuresia entre los animales que procesan.^{22,27,54}

Diagnóstico.

El diagnóstico definitivo de PCP debe ser rápido y oportuno; siendo esencial identificar los diferentes serotipos prevalentes en la zona. La pleuroneumonía puede presentar tres formas clínicas diferentes: sobreaguda, aguda y crónica.

La sobreaguda debido a su rápida presentación es de difícil diagnóstico por lo que el aislamiento del agente representa uno de los pocos recursos disponibles.³⁹

Para llegar a un diagnóstico acertado es importante considerar cuatro aspectos:

- a) Observación de los signos clínicos que presentan los animales.
- b) Observación de lesiones durante la necropsia en los casos sobreagudos y agudos y durante la inspección en el rastro en los casos crónicos.
- c) Aislamiento y tipificación de App a partir de los pulmones de cerdos con problemas agudos o bien crónicos.
- d) Diagnóstico serológico.

El aislamiento y la identificación bioquímica se hacen a partir de muestras de pulmón y tonsilas. El crecimiento y la posterior identificación necesitan al menos de tres o cuatro días.⁶

Para la detección de App. a partir de tejidos o exudados, se pueden utilizar varias pruebas de laboratorio. La prueba de coagulación nos permite detectar el antígeno a partir de extractos de pulmón; una de sus ventajas es la de detectar animales infectados simultáneamente con varios serotipos o detectar el antígeno aún cuando se utilicen muestras en mal estado.^{39, 54}

Otras pruebas son las de inmunodifusión y la contrainmunolectroforesis, cuyo desarrollo es similar, pero en la segunda se aplica un campo eléctrico que permite la aparición más rápida de las líneas de precipitación positivas. Ambas pruebas tienen un alto grado de correlación con la prueba de coagulación observándose sus mismas ventajas e inconvenientes. Inmunohistoquímica es una prueba rápida, fácil de realizar y que permite el empleo de muestras fijadas antiguas. La inmunofluorescencia indirecta nos permite observar la presencia del microorganismo en los pulmones de los animales afectados con la forma aguda de la enfermedad. Como ventaja más importante debemos de resaltar su rápida ejecución que permite obtener los resultados en tan sólo tres horas. Otras técnicas que se han utilizado con resultados satisfactorios para la detección de App son ELISA indirecta y PCR.^{39, 6, 54}

Para el diagnóstico de PCP se considera que el método serológico es el más indicado ya que se puede realizar en los animales vivos con y sin signos clínicos, no requiere del sacrificio de los cerdos, es más rápido y nos permite hacer perfiles de la enfermedad, identificando el punto de infección en la granja. Para el diagnóstico de App podemos señalar las siguientes pruebas: aglutinación, aglutinación con partículas de látex, aglutinación en tubo con 2-mercaptoetanol, la hemoaglutinación indirecta, el inmunoblotting, el radioinmunoensayo, la fijación del complemento, ELISA y la neutralización de la toxina Apx I.^{39, 6, 54}

La técnica de aglutinación en tubo con 2-mercaptoetanol no permite la detección de IgM, por lo tanto no se pueden detectar los animales recientemente infectados, es menos sensible y específica que la de fijación de complemento y no es recomendable para un gran número de muestras. Hemoaglutinación indirecta e inmunoblotting se utilizan en la investigación. Aunque la

prueba de fijación de complemento se utiliza en muchos países de manera rutinaria, ya que con esta se puede determinar que granjas están libres de la enfermedad, es una prueba muy complicada que ocupa muchos controles y en la que es necesario para obtener resultados satisfactorios una muestra de suero de alta calidad (no hemolizada).⁶

En estos momentos existen en el mercado kits de diagnóstico serológico para App, que fueron desarrollados en Canadá, España, México y Suiza, con variable sensibilidad y especificidad.

De los kits mencionados, el desarrollado en Canadá es una de las pruebas para la cual se conoce con más detalle los alcances de su utilidad. Esta prueba está basada en la pared de la bacteria, y es específica de serotipo. La ventaja es que se utiliza con el serotipo que se sospecha y es bien específica para dicho serotipo. La desventaja es que cuando no se sabe el serotipo que causa el problema, hay que probar contra los más comunes, lo que aumenta los gastos para el productor. Esto se puede solucionar con un buen diagnóstico patológico. La segunda desventaja, es que los animales vacunados con bacterinas (la mayoría de las vacunas en el comercio), presentan reacciones cruzadas, así que no se puede diferenciar animales vacunados de animales infectados. Lo mismo sucede con las vacunas de nueva generación (a base de toxinas); se ha demostrado recientemente que ciertos animales vacunados pueden presentar reacciones serológicas con el serotipo 1, usando el kit canadiense. El segundo tipo de kit, es el desarrollado en Suiza. Este kit, detecta anticuerpos contra la toxina ApxIV. Esta toxina es producida únicamente por App y por ninguna otra especie bacteriana, y solamente cuando la bacteria está viva en el animal. Además animales vacunados con bacterinas o con la vacuna basada en toxinas no presentan ninguna reacción serológica, lo que permite diferenciar animales vacunados de aquellos infectados. El inconveniente de este kit, es que no diferencia entre los serotipos. Muchas granjas están infectadas por varios serotipos de App, la mayoría de los cuales no son patógenos. Estas granjas darán resultados positivos, y no se podrá diferenciar de otra granja que esté infectada con un serotipo gravemente patógeno. En otras palabras, esta prueba puede ser utilizada sobretudo en

granjas de muy alto nivel sanitario y que no están infectadas con ningún serotipo de App. Las granjas negativas a todos los serotipos podrían ser vacunadas para agregar una protección suplementaria sin provocar problemas en el diagnóstico, ya que la prueba ApxIV será negativa.^{36,20}

La serología puede utilizarse, por ejemplo, en las siguientes situaciones: 1) Confirmación de una infección crónica, de la cual se sospecha luego de verificar lesiones pulmonares. 2) Estudio de la cinética de anticuerpos en una granja infectada, para establecer un programa de vacunación o de medicación por vía oral. 3) Identificación de maternidades infectadas en el caso de compra de lechones de origen distintos para sistemas de tipo todo-dentro/todo fuera. Este punto es importante, ya que se debe tomar una decisión en cuanto a la categoría de animales que van a ser muestreados. Los animales adultos (madres) presentan en general una infección de baja prevalencia, con bajos títulos de anticuerpos. Dado que ciertas reacciones no-específicas pueden ocasionalmente encontrarse en este grupo de animales, muchas veces es difícil la interpretación de valores serológicos bajos. Si se desea muestrear los lechones al destete, el número de animales a probar debe ser elevado, ya que la seroconversión puede observarse solo a partir de las 8 semanas de vida, momento en el cual los animales van a ser introducidos en el engorde (si no se efectúa un destete precoz). 4) Intentos de erradicación. 5) Verificación de la respuesta de anticuerpos frente a una vacunación.³⁶

Si bien la serología es el método más sensible y práctico para realizar el diagnóstico de una enfermedad sub-clínica, en ciertas ocasiones la interpretación es difícil. En los casos donde el estado clínico de los animales es óptimo, y solo se obtienen algunos animales positivos en serología, el diagnóstico final debe ser basado en el aislamiento de la bacteria a partir de las amígdalas. Esta técnica es difícil y poco sensible, debido a la presencia de muchas otras especies bacterianas que forman parte de la flora normal y que muchas veces crecen y enmascaran las colonias de App, aún si se utilizan medios selectivos. Como alternativa al

aislamiento típico, la detección directa con métodos moleculares como PCR, puede efectuarse. Si bien es un método muy sensible, la mayoría de las pruebas descritas no distinguen entre los serotipos, eso puede provocar resultados positivos con serotipos poco patógenos, que no ayuda a la interpretación de los resultados.^{20, 39}

Tratamiento.

A. pleuropneumoniae es susceptible a numerosos antibióticos, aunque la medicación indiscriminada ha originado en los últimos años un aumento importante de la resistencia en especial a penicilinas y tetraciclinas. A nivel experimental las cefalosporinas, kanamicina, tobramicina y gentamicina resultaron muy eficaces, pero fueron sin duda las quinolonas los antimicrobianos más seguros.^{39, 41} En cualquier caso, es preciso tener en cuenta que la terapia antibiótica solamente es eficaz durante la fase inicial de la enfermedad y ello llevando a cabo un tratamiento en masa de toda la nave, pues la identificación de una infección incipiente a nivel individual resulta imposible; por lo que se recomienda en brotes agudos un tratamiento basado en la aplicación del antibiótico de su elección a todos los cerdos de la unidad a una dosis suficientemente alta durante 7 a 10 días para obtener resultados favorables y rápidos. Si el curso de la infección es más crónico, el tratamiento se puede restringir sólo a los animales enfermos. Sin embargo el éxito de la terapia depende principalmente de que las infecciones se detecten oportunamente y se aplique rápidamente, con base a los signos clínicos.^{27, 29, 41, 54}

Otro programa eficaz en brotes agudos puede incluir un periodo de tratamiento oral de 4-5 días, descanso 5 días y reanudación con el mismo tiempo, repitiendo el ciclo varias veces pudiendo aumentar el periodo de descanso de modo gradual hasta los nueve días.⁴¹

Debido a la resistencia antes referida del microorganismo frente a los antibióticos, se recomienda que la elección del antibiótico a utilizar se realice con base a resultados de pruebas de susceptibilidad realizadas en un laboratorio de diagnóstico.

Tanto el tratamiento con antibióticos, como la utilización de estos de manera profiláctica en la ración no logran la eliminación total del microorganismo dentro de la pira, por lo que durante los periodos de riesgo no se podrá evitar el desarrollo de portadores a partir de los cuales por lo general se aísla App a partir de tonsilas. Se pueden esperar casos nuevos de infección por este microorganismo en situaciones de clima adverso o cuando ocurran situaciones de estrés.⁵⁴

Prevención y Control.

En el pasado, las medidas de control se encaminaron a controlar el impacto de la enfermedad sobre la producción, pero estos esfuerzos no siempre han sido exitosos. El trabajo clínico en granjas ha mostrado que App juega un papel predominante en la enfermedad respiratoria aguda, pero que otros patógenos también contribuyen con los signos clínicos.

Si se pretende implementar un programa eficaz de prevención y control deben ser comprendidas perfectamente las interrelaciones entre el microorganismo, su hospedador y el sistema de producción.^{29, 41, 54}

Desde el punto de vista ganadero solamente se plantean dos opciones en relación con la pleuroneumonía porcina: convivir con ella, minimizando su impacto económico sobre la explotación o lograr una explotación libre de la enfermedad; en cualquier caso se requiere un análisis cuidadoso de ventajas e inconvenientes.

Para la eliminación de App es necesario implementar un sistema de manejo calificado con unidades separadas en las naves o un sistema todo-dentro/todo-fuera en las que se permita la limpieza y desinfección profundas de las instalaciones. Es importante incluir la vigilancia en los factores que afectan de manera directa el medio ambiente de la explotación como las variaciones mínimas en el flujo de aire, la temperatura y la humedad de las naves, la densidad de animales etc. Estos factores bien controlados nos permitirán mantener la inmunidad y resistencia de los animales

tan elevadas como sea posible, reduciendo situaciones de estrés y la presencia de otras enfermedades que seguramente facilitarían el desarrollo de brotes agudos de la enfermedad.

Si la tasa de seropositivos es muy alta o si se presentan brotes clínicos recurrentes, el método de elección, si lo que se propone es la erradicación de la enfermedad, es la despoblación de la granja eliminando la totalidad de sus efectivos y repoblando después con animales procedentes de explotaciones certificadas, libres de pleuroneumonía. Este procedimiento es muy caro, por lo que una alternativa puede ser un programa de control en la propia explotación, llevando a cabo el destete en otra granja al tiempo que se pone en práctica un programa de vacunación y medicaciones convenientes y de modo paralelo un programa de selección y repoblación de animales sanos de la mejor calidad posible, obligando sistemáticamente a que la entrada de animales serológicamente negativos en estas explotaciones vaya siempre precedida de su vacunación con un producto eficaz.^{27, 29, 41, 54}

Cuando en una explotación endémicamente infectada el porcentaje de animales seropositivos no es muy alto, por ejemplo menor al 30%, resulta muy útil el diagnóstico y la separación de los positivos a los que se somete después a un programa de medicación. El programa se completa con la investigación serológica de las cerdas antes del parto, destetando los lechones precozmente (a las dos semanas) y someténdolos a un tratamiento con antibióticos, manteniéndolos después separados de los lotes potencialmente infectados. De esta forma se eliminan también otros patógenos entéricos y respiratorios y estos lechones pueden servir para repoblar la explotación. Las madres que resultan positivas se eliminan sistemáticamente hasta que se consigue que el plantel de cría sea seronegativo. Durante el periodo de eliminación, toda la explotación se protege de reinfecciones con una alimentación medicada.

Este tipo de medidas ha sido exitosa para algunos pero no para otros, por lo que se debe tener en cuenta que factores como la virulencia de la cepa, la situación epidemiológica particular de la

explotación, las condiciones de manejo, la eficacia de la medicación y los fallos en los procedimientos de diagnóstico pueden influir decisivamente en el resultado final.

La experiencia que se tiene con la utilización de programas de destete precoz señalan que la transmisión subclínica de *App* entre madre y lechones no suele tener lugar antes de los once días después del nacimiento; se sabe también que aproximadamente la mitad de los lechones se infectan a los 16 días y que si se retrasa el destete hasta los 21 días la mayoría de los cerdos ya están infectados. Este tipo de programas ha conducido a la aplicación de grupos de aislamiento en el que los cerdos se clasifican por la edad en tres ubicaciones separadas, cada una de las cuales es atendida por personal diferente, operando con barreras ambientales entre ellas; por ejemplo adultos y lechones son albergados en la primera nave, al destete los lechones pasan a un segundo lugar hasta que alcanzan los 25 Kg. aproximadamente y estos son transferidos finalmente a un tercero donde se completa el periodo de finalización; en este caso los cerdos adultos pueden ser serológicamente positivos mientras que los otros grupos de edad son negativos. La segregación por edades, la distancia con la que se previene la transmisión de aerosoles y una rigurosa aplicación de medidas de bioseguridad permiten reducir la transmisión de muchas enfermedades incluyendo la pleuroneumonía por *App*. Si llegaran a fallar las barreras de seguridad entre los grupos y se presentara un brote grave; una vacuna efectiva podría ser especialmente útil para el control de la enfermedad.^{27, 41, 54}

En las explotaciones libres se recomienda el más estricto control en la entrada de animales, incorporando un periodo de cuarentena que incluya la detección serológica de anticuerpos y aislamientos microbiológicos.⁴

ENFERMEDAD DEL OJO AZUL

Definición.

Es una enfermedad específica del cerdo, que afecta principalmente a animales jóvenes y aquellos en edad reproductiva. Se caracteriza por producir signos nerviosos, respiratorios, reproductivos y ocasionalmente opacidad corneal.^{1, 10, 47}

Antecedentes.

La enfermedad del ojo azul fue observada por primera vez en 1980 en La Piedad, Michoacán, México.^{45, 50} Los primeros brotes se caracterizaron por presentar cuadros de encefalitis en lechones, mortalidad y ocasionalmente opacidad corneal, identificando al microorganismo causal como un virus hemoaglutinante del grupo de los Paramixovirus.^{1, 13}

En 1954 en Japón ya se había aislado un virus hemoaglutinante en cerdos con influenza porcina y encefalitis; que producía desordenes en el aparato reproductivo, respiratorio y sistema nervioso central. En 1971 en el Canadá se aisló un virus hemoaglutinante de un cerdo que procedía de un brote de encefalitis; tal virus se inoculó experimentalmente a lechones, pero no se lograron producir ni signos ni lesiones de la enfermedad. En Israel en 1986 se aisló un paramixovirus en cerdos aparentemente sanos antes de ser enviados al rastro.^{11, 47}

En el mismo año en que se reportó el primer brote en nuestro país en una granja comercial de 2500 vientres en La Piedad Michoacán, también fueron observados brotes similares en granjas de los estados de Jalisco y Guanajuato. Desde entonces la enfermedad se ha considerado como importante económicamente y ha sido diagnosticada en los estados de Nuevo León, Hidalgo, Tlaxcala, Estado de México, Distrito Federal, Querétaro, Tamaulipas, Puebla y Campeche. Cerdos con lesiones características de la enfermedad, procedentes de los estados del centro de nuestro país han sido identificados en los rastros de Tabasco y Yucatán, sin embargo en estos estados no se han presentado brotes. En Tamaulipas y Campeche no se han presentado brotes desde 1984 y

1988 respectivamente. El principal foco de la enfermedad se localiza en los estados de Michoacán, Jalisco y Guanajuato en donde hay una densa población de cerdos. ^{1,4, 45, 47, 60}

Aunque el primer brote se presentó en 1980, no fue sino hasta 1983 que se identificó falla reproductiva en hembras e infertilidad en machos; además de que se detectó que en granjas mal manejadas y con presencia de otras enfermedades se observaban brotes severos de encefalitis y alta mortalidad en animales de 15 a 45 Kg. En 1988 se reportan severos problemas de orquitis, epididimitis y atrofia testicular en machos. Se han identificado cepas con diferentes grados de virulencia y la enfermedad no ha sido reportada en otros países. En 1998 se observaron casos severos de la enfermedad asociada con el VPRRS donde los parámetros reproductivos mostraron lesiones más severas en comparación con las normalmente reportadas para esta enfermedad. ^{43, 47}

Etiología.

La enfermedad del ojo azul es producida por un virus de la familia Paramyxoviridae, la cual recientemente fue reorganizada, clasificando al paramixovirus del ojo azul como un miembro de la subfamilia Paramyxovirinae, género Rubulavirus (virus de las paperas). En microscopía electrónica las partículas virales son similares a las de los paramixovirus y mide aproximadamente 135-148 nm por 257-360 nm. El virión es esférico, no se han observado formas filamentosas y su envoltura presenta proyecciones o espículas. Las nucleocápsides son semejantes a una espiral o hélice que en partículas virales rotas son frecuentemente vistas como elementos individuales con un diámetro de 20 nm y una longitud de 1000 a 1630nm o más. El virus está constituido por 6 proteínas: HN (65 KDa), fosfoproteína (52 KDa), nucleoproteína (68 KDa), proteína L (200 KDa), proteína M (40 KDa), y proteína F (59 KDa), llamada proteína de fusión y que participa en la fijación del virus a la célula huésped. El Rubulavirus tiene actividad hemoadsorbente, hemolítica y de neuraminidasa ^{13, 36, 47, 60}

El virus es sensible al cloroformo, formalina y beta propilactona, pero es resistente a actinamicin D y se inactiva a 50° C durante 4h.

Este virus se replica y produce efecto citopático en una gran variedad de cultivos celulares; crece en monocultivos de riñón de cerdo, PK15, tiroides de bovino, demis de equino, testiculos de cerdo, riñón de gato, riñón de hámster bebé, células Vero y también se puede replicar en embrión de pollo.^{10,31, 47}

En cultivos primarios de riñón de cerdo o en PK15 el efecto citopático se empieza a observar entre las 24 a 48 horas post-inoculación y se observa por completo entre 5 a 7 días posteriores a la inoculación. Las células se ven redondeadas, con vacuolas en el citoplasma, se observan sincitios y las células muertas se desprenden en forma de placas.

En las células PK15 el virus puede ser visto libre en el citoplasma o dentro de vesículas, algunas células también contienen cuerpos de inclusión virales. En los cultivos de células turbinadas porcinas y turbinadas bovinas y células de riñón se han observado sincitios.³¹

Hemaglutina eritrocitos de cuye, pollo, cerdo, bovino, conejo, ratones, ratas, caballo, hámster, cerdos, cabras, gatos, perros y los de humano de los 4 grupos (A, B, AB y O).^{13, 47, 60} Se da la elusión espontánea a 37° C después de 30 a 60 minutos; cultivos infectados de PK15 son positivos a la hemoadsorción con eritrocitos de pollo.⁴⁷



Figura 5. Rubulavirus porcino, microscopia electrónica.

Epidemiología:

Los cerdos son los únicos animales infectados en condiciones naturales por el virus. Experimentalmente el virus puede afectar ratones y embriones de pollo; conejos, perros y gatos no presentan signos clínicos¹, pero los conejos producen anticuerpos. Cerdos infectados subclínicamente son los principales reservorios del virus. El virus puede diseminarse a través de personas, vehículos y posiblemente aves y aire. En un trabajo de investigación en el cual se evaluó el efecto del virus sobre los órganos reproductivos del verraco, se pudo lograr el aislamiento del microorganismo a partir de testículos y glándulas accesorias, concluyendo que el Rubulavirus puede estar eliminándose por semen por un periodo de 30 días.^{36, 47}

Su importancia radica en que sólo se ha reportado en México y actualmente se encuentra ampliamente difundido en todo el país. Su distribución ha sido analizada a través de la detección de anticuerpos y aislamiento del virus para confirmar su presencia. En el periodo de 1989 a 1990, se analizaron 4549 muestras serológicas de pie de cria provenientes de 27 estados, de las cuales 954 fueron positivas, representando un 20.97% distribuidas en 12 estados y significando un 37.5% del territorio mexicano. Los recientes resultados en cuanto a la distribución de la enfermedad; esto es más del 30% del territorio mexicano, indican una escasez o ausencia de medidas de control en la movilización de animales.

Esta enfermedad ocasiona un severo impacto económico por la mortalidad que causa en cerdos de diferentes edades y la marcada falla reproductiva aparentemente se autolimita en piaras cerradas.

Cerdos centinelas introducidos a una granja de 6 a 12 meses después de un brote permanecen asintomáticos y no producen anticuerpos. Los cerdos infectados de manera natural desarrollan anticuerpos que generalmente persisten toda su vida; sin embargo, la enfermedad se puede presentar en la progenie susceptible y cuando cerdos nuevos se

introducen a la granja. Granjas con un sistema continuo de producción pueden presentar casos periódicamente. El ojo azul es más común de marzo a julio, que son los meses más secos y calurosos del año en México, pero los brotes se observan todo el año.¹

Signos clínicos.

La enfermedad puede comenzar en cualquier unidad de pie de cría pero generalmente se observa primero en las maternidades, con signología nerviosa y alta mortalidad en lechones. Casi simultáneamente se puede observar opacidad corneal en algunos cerdos del destete o de la engorda. La mortalidad se incrementa rápidamente para disminuir en corto tiempo. Una vez que el brote inicial ha acabado, no aparecen nuevos casos clínicos a menos que se introduzcan cerdos susceptibles a la granja infectada, como se ha observado en granjas de flujo continuo.⁴⁷

Los signos clínicos son variables y dependen principalmente de la edad del cerdo. Los lechones de 2 a 15 días de edad son más susceptibles y los signos clínicos son súbitos. Lechones sanos pueden repentinamente verse postrados, generalmente en decúbito lateral o muestran signos nerviosos. Pero la enfermedad generalmente cursa un cuadro que comienza con fiebre, pelo hirsuto y arqueamiento de la espalda o lomo, algunas veces acompañado por constipación o diarrea. Estos signos son seguidos por signos nerviosos progresivos de ataxia, debilidad, rigidez, temblor muscular y postura anormal tal como sentado. La anorexia no ocurre mientras los lechones puedan caminar. Algunos lechones están hiperexcitables, chillones y mostrando movimientos de pedaleo cuando se manejan. Otros signos incluyen letargo, con algunos movimientos involuntarios, pupilas dilatadas, ceguera aparente y algunas veces nistagmos. Algunos lechones sufren conjuntivitis con inflamación de párpados y lagrimeo. Con frecuencia los párpados están cerrados y adheridos con exudado. Del 1 al 10% de los lechones afectados muestran opacidad corneal uni o bilateral. Con frecuencia la opacidad corneal puede verse sin otros signos y generalmente se resuelve de manera espontánea. En los primeros casos observados los cerdos suelen morir dentro

de las 48 horas de iniciados los signos clínicos, pero en casos posteriores la muerte ocurre después de 4 a 6 días.^{10, 47, 50}

De las camadas paridas durante un brote, del 20 al 65% se ven afectadas. En estas camadas la morbilidad oscila entre 20 y 50% y la mortalidad entre 87 y 90%; la mortalidad dura de 2 a 9 semanas dependiendo principalmente del sistema de manejo. La mayoría de las cerdas de las camadas afectadas están clínicamente sanas. Algunas de ellas muestran anorexia moderada uno o dos días antes de la aparición de signos clínicos en los lechones y la opacidad corneal también se ha observado en maternidad durante los brotes.

Cerdos de más de 30 días de edad muestran signos clínicos moderados y pasajeros, tales como anorexia, fiebre, estornudo y tos. Los signos nerviosos son menos frecuentes y menos obvios pero cuando se presentan se observa decaimiento, ataxia, caminan en círculo y raramente oscilan la cabeza. Como en los lechones, la opacidad corneal unilateral o bilateral y conjuntivitis continua apareciendo en la granja por otro mes sin más signos. Sólo 1 - 4 % de los cerdos mayores de 30 días se afectan y la mortalidad es generalmente baja. En cerdos de 15 a 45 Kg. se han observado brotes con 20% de mortalidad y severas manifestaciones nerviosas; la opacidad corneal estuvo presente en más del 30% de estos cerdos. Hembras de reemplazo y otros cerdos adultos ocasionalmente también desarrollan opacidad corneal. En cerdas gestantes se observa un incremento en el número de animales repetidores, lo cual dura de 6-8 meses. En algunas cerdas se ha observado aborto y durante los brotes también hay un aumento de nacidos muertos y momias en 24 y 12 % respectivamente.^{47, 50}

En granjas afectadas por el Rubulavirus porcino, del 14 al 40 % de los sementales muestran una reducción en la fertilidad asociada con un aumento del tamaño del testículo y el epidídimo. Este aumento generalmente es unilateral y posteriormente el testículo se atrofia con endurecimiento del epidídimo.³⁶

El efecto clínico varía entre una granja y otra, y de un brote a otro, sin embargo en algunas granjas se mantiene hasta por 4 meses y el efecto reproductivo dura de 5 a 8 meses. Los parámetros afectados son los siguientes.

Tabla 9. Parámetros que son afectados por el Rubulavirus porcino

ETAPA	EFECTO
En pie de cría	Aumento del % de repetición Disminución de la tasa de parición Disminución en el número de partos Aumento del número de abortos Aumento de días a primer servicio Aumento de los días improductivos Aumento del % de hembras atrasadas Aumento del número de hembras muertas
En maternidad	Disminución de lechones nacidos totales Disminución del promedio de lechones nacidos vivos Aumento del número de lechones nacidos muertos Aumento del número de momias Aumento de la mortalidad pre-destete Disminución del promedio de destetados
Destete a finalización	Aumento del % de mortalidad Aumento del % de vendidos de desecho Disminución de la ganancia diaria de peso Disminución del número de vendidos Aumento de la conversión alimenticia

Patogenia.

Su transmisión es por contacto directo entre animales portadores y animales susceptibles, por contacto indirecto a través de fomites. Experimentalmente se pueden infectar intratraquealmente e intranasalmente a través de instilación o aerosoles presentándose signos clínicos similares a los que suceden en la infección natural. Lechones de 1 día de edad desarrollan un síndrome nervioso en 20-66 h post-inoculación; algunos cerdos destetados (21 a 50 días de edad) desarrollan un síndrome nervioso a los 11 días post-inoculación y las

cerdas gestantes manifiestan falla reproductiva cuando se inoculan durante la gestación. La opacidad corneal también se observa ocasionalmente en estos casos.⁴⁷

La enfermedad también se reprodujo en cerdos susceptibles colocados en contacto con cerdos infectados experimentalmente después de más de 19 días de la infección experimental.^{13, 47, 24, 60}

La multiplicación inicial del virus se realiza en la mucosa nasofaríngea y el tejido linfático de la zona por lo que el virus puede ser recuperado de secreciones nasales y de tonsila; posteriormente el virus penetra en bronquios y pulmones donde también se replica, diseminándose en todo el organismo.^{13, 47, 24, 60}

Los cerdos infectados natural o artificialmente son fácilmente detectados mediante inmunofluorescencia. El virus también ha sido observado en el axón neuronal. El ingreso del virus a sistema nervioso central ocurre a través de las terminaciones nerviosas que se encuentran en la nasofaringe, ascendiendo por nervios olfatorios, de aquí pasa al hipocampo, tallo cerebral y cerebelo donde se replica abundantemente. Aunque también se sugiere que el virus ingresa al SNC por vía sanguínea atravesando la barrera hematoencefálica. Durante la fase de viremia el virus se transporta por medio de los eritrocitos y monocitos lo que le permite causar una infección sistémica y replicarse en sitios inmuno - privilegiados de órganos linfáticos y aparato reproductor. El cerebro es el tejido de elección para aislamiento e inmunofluorescencia.^{13, 47, 60}

En lechones inoculados experimentalmente, pudo aislarse el virus a partir de cerebro, pulmón, tonsila, hígado, cometas, bazo, riñón, linfonódulos mesentéricos, corazón y sangre. Cerebro, pulmón y tonsilas son los sitios más comunes para aislamiento.¹³

No está claro cómo se da la opacidad corneal. No es fácil reproducirla experimentalmente, pero algunas lesiones histológicas como uveítis anterior se observan comúnmente en la córnea. Generalmente la opacidad ocurre tardíamente en el curso de la enfermedad. Las lesiones histológicas y los signos sugieren que es debido a una reacción inmunológica similar a la producida por el adenovirus de la hepatitis canina. Algunos estudios indican que el virus se replica en la

córnea ya que se observan cuerpos de inclusión intracitoplasmáticos en las células epiteliales cerca de la unión córneo-escleral en cerdos infectados agudamente. La opacidad corneal se ha observado en cerdos clínicamente normales y resistentes a la infección, y desaparece después de un tiempo.⁴⁷

En cerdas gestantes el virus produce falla reproductiva, con mortalidad embrionaria y retorno al estro en el primer tercio de gestación, y nacidos muertos y momificados cuando esto ocurre al final de la gestación. El verraco presenta infertilidad por orquitis, epididimitis y atrofia testicular asociada con granuloma espermático.^{36, 47}

La infección por el Rubulavirus se ha asociado generalmente con neumonía, especialmente por *Actinobacillus pleuropneumoniae*, pero la inoculación experimental del virus previo a la infección con *Pasteurella multocida* tipos A y D no resulta en la colonización del pulmón por la bacteria.²⁴

Lesiones.

A la necropsia con frecuencia se observa una neumonía ligera en la porción ventral de los lóbulos craneales. Distensión gástrica leve con leche (en lechones), distensión de la vejiga urinaria con orina y pequeña acumulación de fluido con fibrina en la cavidad abdominal. También se observa congestión cerebral e incremento del líquido cefalorraquídeo. Se ha confirmado conjuntivitis, quemosis, y varios grados de opacidad corneal usualmente unilateral. En la cornea puede haber formación de vesículas, úlceras y queratocono, así como exudado en la cámara anterior. Se pueden observar hemorragias pericárdicas y renales. En sementales puede haber orquitis epididimitis y finalmente atrofia testicular con o sin formación granulomatosa en el epidídimo.⁷³

Los principales cambios histológicos están localizados en el cerebro y en la médula espinal, en donde se puede observar una encefalomyelitis no supurativa afectando principalmente la materia gris del tálamo, cerebro medio y corteza cerebral, caracterizada por gliosis multifocal y difusa, acumulación perivascular con linfocitos células plasmáticas y células reticulares, necrosis neuronal,

neuronofagia, meningitis y coroiditis. Se observan cuerpos de inclusión intracitoplasmáticos en neuronas. Los pulmones presentan focos de neumonía intersticial caracterizada por engrosamiento del septo con infiltración de células mononucleares. Los cambios en el ojo son principalmente opacidad corneal caracterizada por edema corneal y uveítis anterior.^{13, 47, 60}

En la cornea, epitelio iridocorneal y ángulo corneo-escleral se puede observar infiltrado de neutrófilos, macrófagos o mononucleares. La capa externa de la cornea con frecuencia presenta vesículas citoplásmicas y algunas veces inclusiones intracitoplasmáticas en células epiteliales cerca del ángulo corneo-escleral. Muchos animales muestran tonsilitis leve con descamación del epitelio y células inflamatorias en las criptas.

Diagnóstico.

El diagnóstico clínico de la enfermedad se da con base en la presencia de encefalitis, opacidad corneal y falla reproductiva en hembras y orquitis y epididimitis en sementales. Histológicamente se observa encefalitis no supurativa, uveítis anterior, queratinitis, orquitis y epididimitis; la presencia de cuerpos de inclusión intracitoplasmáticos en neuronas y epitelio corneal sirve para confirmar el diagnóstico.

Se han desarrollado pruebas serológicas como inhibición de la hemaglutinación (HI), virus neutralización, ELISA e inmunoperoxidasa para identificar animales positivos. Hasta ahora HI es la prueba más usada pero títulos falsos positivos 1:16, han sido detectados cuando se utilizan eritrocitos de pollo o cuando el antígeno viral es crecido en embrión de pollo, por lo que se recomienda el uso de eritrocitos de cuyo⁶⁵. También ha sido usada la técnica de inmunofluorescencia directa. Se han hecho diversos estudios para determinar cuál es la prueba serologica más confiable, concluyendo que la SN y ELISA son las mejores y que HI puede emplearse como prueba de piara ya que detecta a un pequeño porcentaje de falsos positivos.^{13, 60}

Cuando se trata de identificar la presencia del virus en animales de alto valor genético se puede

utilizar el diagnóstico de PCR que recientemente a sido implementado como una alternativa diagnóstica altamente confiable.⁴⁷

El virus es fácilmente aislado al adicionar una suspensión de cerebro o tonsila de cerdos infectados a un cultivo celular de PK15 o un cultivo primario de riñón de cerdo. El efecto citopático inducido por el virus se caracteriza por formar sincitios.⁴⁷

Medidas de control.

1. No servir a las hembras antes de los 21 días posparto aun cuando se les muera toda la camada.
2. A las hembras abortadas no cargarlas de inmediato. también dejar 21 días antes del servicio.
3. A las hembras destetadas darles hasta la fecha del servicio la dieta de lactancia o una con alta energía (preiniciador).
4. Evaluar a todos los sementales de la granja y eliminar a todos los que presenten lesiones testiculares.
5. Intensificar el diagnóstico de gestación, con muchos ultrasonidos y visual. En todos los lotes.
6. Subir el número de servicios en la medida que se incrementen las repeticiones para no caer en el número de partos.
7. Cerrar la granja a la entrada de animales susceptibles (reemplazos) al menos por 16 semanas.

Prevención y control.

Las medias de bioseguridad son el método más efectivo para prevenir la introducción de la enfermedad en la granja. El pie de cría deberá provenir de granjas sanas. La localización de la granja es especialmente importante. La cerca perimetral, delimitación de áreas, duchas y vestidores, control de personal, de visitantes y vehículos, control de aves y roedores, eliminación efectiva de basura, desechos y cadáveres, y un área de cuarentena ayudan a prevenir la entrada de la enfermedad. Se deberán realizar pruebas serológicas a los animales de reemplazo.

La eliminación del Rubulavirus de granjas infectadas a sido lograda con prácticas de manejo tales como cerrado del hato, limpieza y desinfección, todo-dentro/todo-fuera, eliminación de animales afectados clínicamente (cerdos con signos nerviosos o machos infértiles) y eliminación de cadáveres. Estos procedimientos seguidos por muestreo serológico, análisis del comportamiento de la piara y entrada de cerdos centinelas seronegativos al virus de ojo azul confirman la eliminación del Rubulavirus.

Para reducir el impacto económico de la enfermedad se deberán tomar diferentes medidas, los machos infértiles con o sin orquitis se deberán eliminar, las cerdas y primizas que se presumen gestantes deberán observarse cuidadosamente para detectar signos de estro y de ser posible confirmar la gestación con ultrasonido. Actualmente se está tratando de delimitar la enfermedad con vacunación.⁴⁷

OBJETIVO GENERAL

Determinar si existe sinergia entre el Rubulavirus porcino y el *Actinobacillus pleuropneumoniae*, en la presentación de la pleuroneumonía contagiosa porcina y/o en la enfermedad del ojo azul.

OBJETIVOS PARTICULARES

1. En condiciones de aerosolización, replicar tanto la enfermedad del ojo azul como la pleuroneumonía porcina (PP) en cerdos convencionales.

2. Lograr la infección de PCP con dosis mínimas de *A. pleuropneumoniae* en cerdos previamente inoculados con una dosis mínima infectante del Rubulavirus porcino productor de la enfermedad del ojo azul.
 - a) Evaluar el estado de salud de cada grupo durante el experimento.
 - b) Evaluar las lesiones producidas, tanto macroscópica como microscópicamente, por los agentes inoculados de manera individual y cuando son inoculados conjuntamente.
 - c) Aislar los diferentes agentes inoculados, a partir de los pulmones de los animales infectados experimentalmente.
 - d) Determinar la presencia de anticuerpos contra el Rubulavirus porcino por las prueba de IH y seroneutralización y *A. pleuropneumoniae* por las pruebas de aglutinación directa en placa.

MATERIAL Y MÉTODOS

I. Animales de Experimentación.

Para el presente estudio fueron utilizados 14 cerdos convencionales obtenidos de una granja libre de anticuerpos contra *A. pleuropneumoniae* (App), el Rubulavirus porcino (Rvp), el virus de la enfermedad de Aujeszky (VEA), el virus de PRRS y *Mycoplasma hyopneumoniae*.

Los animales fueron distribuidos aleatoriamente en 4 grupos. Los grupos II, III, IV estuvieron conformados por 4 cerdos cada uno y el grupo I por 2 animales, este último representó al grupo control del experimento.

El grupo II fue inoculado con el Rubulavirus porcino (Rvp) y el III se inoculó con *A. pleuropneumoniae* (App), el grupo IV se inoculó primero con el Rvp y después con el App.

Tabla 10. Inoculación por grupos.

Grupo	Inóculo	No. de animal
I	Control	23,38
II	Rvp	5,15,26,30
III	App	10,13,16,19
IV	Rvp y App	4, 6, 22, 43

II. Alimento.

El alimento utilizado fue de tipo comercial, etapa predestete sin antibiótico, con el siguiente análisis bromatológico: humedad 12% máximo, proteína 20% mínimo, grasa 10% mínimo, fibra 4.5 % máximo, lisina 1.4% mínimo, cenizas 6% máximo, ELN 47% mínimo, calcio 0.82% mínimo, fósforo 0.74% mínimo, metionina más cisteína 0.8% mínimo. Se proporcionó 1 kg de alimento por animal y agua a libre acceso.

III. Instalaciones.

Los animales fueron alojados en una caseta aislada en el área de certificación del CENID-Microbiología. La caseta presentaba dos líneas paralelas de corrales, separadas por un pasillo de 4 m de ancho. La dimensión de los corrales era de 3.0 m x 4.0 m, con piso de concreto. Estos fueron desinfectados, encalados, se les instalaron bebederos automáticos, luz eléctrica, comederos de tolva, tapete sanitario y cortinas de polietileno para un mejor aislamiento entre corral y corral. Dentro de la caseta existían otros cubículos, uno de ellos se adaptó como vestidor y otro como almacén.

IV. Manejo de los animales al llegar a las instalaciones.

El día de ingreso a las instalaciones fueron pesados e identificados y se les tomó una muestra de sangre para certificar que eran libres de las enfermedades anteriormente mencionadas.

Los animales se mantuvieron en observación por un periodo de 15 días antes de iniciar el experimento.

V. Material biológico.

1. Para la infección experimental con el Rubulavirus porcino, se utilizó la cepa LPM donada por el Dr. Pablo Correa G. del INIFAP. Dicha cepa ha sido mantenida en cultivos celulares PK-15. La cepa fue descongelada, titulada y posteriormente ajustada a una dosis de 10^4 TCID₅₀; conforme a estudios previamente realizados en animales de diferentes edades. A cada animal le fueron inoculados 6 ml del RVP, por medio de nebulización, durante 30 min.
2. Para lograr la replicación de PCP se utilizó una cepa de campo de *A. pleuropneumoniae* serotipo 1. Se realizó el aislamiento a partir de pulmón utilizando como medios de cultivo agar sangre y agar BHI más una cepa nodriza de *Staphylococcus aureus*, posteriormente fue

identificada por tinción de Gram por pruebas bioquímicas y fue serotipificada. Para su purificación se utilizó agar BHI con extracto fresco de levadura y se procedió a la obtención de biomasa y posteriormente se ajustó por nefelometría a una dosis mínima de 2.35×10^5 . La dosis fue determinada por estudios previamente realizados. A cada animal se le inocularon 6 ml de *A. pleuropneumoniae* serotipo 1, por medio de nebulización, durante 30 min.

VI. Método de inoculación.

Se hizo por nebulización con ayuda de una cámara de aerosolización, la cual estaba construida de lámina galvanizada con un tamaño de 1.5 m. de largo x 1.2 m. de ancho y 1.0 m. de alto, según el diseño de Seburny y col. Ésta presentaba tres nebulizadores médicos (Devilbiss, Somerset, PA, mod. 450), conectados a una compresora de aire. La cámara contaba con ruedas para facilitar su desplazamiento, una puerta de acceso con una entrada para uno de los nebulizadores. Las entradas para los otros dos nebulizadores se encontraban en las caras laterales. También contaba con un sistema de aire estéril y un drenaje para desechos. La presión de salida de aire se reguló a 2 kg/cm^2 para obtener en la nebulización partículas de un tamaño aproximado de 0.5 a $5 \mu\text{m}$. Las inoculaciones se realizaron el día 1 con Rubulavirus porcino y 72 h. después con *Actinobacillus pleuropneumoniae* serotipo 1 en el momento de la presentación de signos respiratorios. Los grupos que no fueron nebulizados con el virus o con la bacteria se nebulizaron con medio de cultivo estéril.

Tabla 11. Día 1, aerosolización del Rubulavirus porcino (29-1/96)

Grupo	Vol. En ml.	Tiempo en min.	Inóculo
I	12	30	MEM*
II	24	30	Rvp.
III	24	30	MEM*
IV	24	30	Rvp.

Nota. El inóculo se repartió en tres nebulizadores

* Medio mínimo esencial

Tabla 12. Aerosolización de *Actinobacillus pleuropneumoniae* serotipo I, 72 hrs. después de la inoculación con Rvp (1/2/96)

Grupo	Vol. En ml.	Tiempo en min.	Inóculo
I	12	30	BHI
II	24	30	BHI
III	24	30	App
IV	24	30	App

Nota. El inóculo se repartió en los tres nebulizadores

VII Evaluación de animales y obtención de muestras.

El día de ingreso a las instalaciones los animales fueron sangrados y pesados, al igual que el día 0 del experimento y al término de éste, estos fueron sangrados mediante punción de la vena yugular colectando aproximadamente 10 ml de sangre por animal, sin anticoagulante, dejando reposar las muestras por 3 horas aproximadamente hasta la formación del coágulo y separación del suero. Para una mejor obtención del suero las muestras fueron centrifugadas y colectadas en viales de 5 ml. Estas se conservaron en congelación hasta el momento de la realización de las pruebas serológicas.

Diariamente se registraron las condiciones de salud de los animales y se tomaron temperaturas. Todos los animales se sacrificaron a las 96 h. después de la inoculación con *Actinobacillus pleuropneumoniae* (al presentarse los signos en los cerdos del grupo III). Se realizaron las necropsias, se evaluaron las lesiones macroscópicas por planimetría y se obtuvieron muestras para histopatología, aislamiento viral y bacteriológico.

a) Para el aislamiento bacteriológico se utilizó Agar Sangre y BHI con cepa nodriza de *Staphylococcus aureus*. Se trabajó con dos tipos de muestras, una obtenida directamente de pulmón y la otra a partir de una molienda de pulmón y tonsila.

Del primo cultivo se realizó un pase en medio BHI más cepa nodriza para purificar la cepa. Las cepas aisladas se dieron como positivas cuando:

- Presentaron dependencia al factor V (Satelitismo)
- Las colonias eran blanquecinas, brillantes y mucoides
- En la tinción de Gram las bacterias presentaron una morfología similar a cocobacilos Gram negativos.
- Fueron positivas a la prueba de urea.

b) Para el aislamiento viral se obtuvo una molienda a partir de riñón, bazo, tonsila y pulmón con PBS estéril más una mezcla de antibiótico (penicilina-estreptomicina) a una proporción de 1:10; ésta se centrifugó a 5000 rpm durante 10 min. en refrigeración; se obtuvo el sobrenadante y se pasó por un filtro de 0.22 μm .

Para cada muestra se utilizó un cultivo de células Vero con una confluencia del 90 % al cual le fue retirado el medio de crecimiento e inoculado 0.5 ml. de la suspensión problema. Cada cultivo se incubó a 37° C durante 60 min., al término de la incubación se le agregó medio de mantenimiento y se volvió a incubar por 7 días a 37° C.

Las cosechas de los cultivos que presentaron efecto citopático fueron trabajadas con las técnicas de hemoaglutinación e inhibición de la hemoaglutinación para corroborar su positividad al Rubulavirus porcino. Los casos negativos fueron cosechados, centrifugados, filtrados y vueltos a inocular y sólo fueron considerados como tales hasta el tercer pase.

c) La presencia de anticuerpos, contra el Rubulavirus porcino en los sueros problema se determinó por la técnica de inhibición de la hemoaglutinación (HI).

Para poder trabajar los sueros, éstos fueron inactivados a 56° C por 30 min. y tratados con caolín y glóbulos rojos de ave al 50% durante 15 min. y posteriormente centrifugados.

Antes de trabajar la técnica de HI se tituló el virus aplicando la prueba de hemoaglutinación.

Para el desarrollo de la técnica de inhibición de la hemoaglutinación se trabajó con un virus con un título de 8 UHA. se utilizó PBS con un pH de 7.2 como diluyente y glóbulos rojos de ave al 0.5 %. Las muestras fueron trabajadas de dos maneras con una diferencia en cuanto a temperatura y tiempo: en una se incubaron a 25° C por 45 min. y en la otra la incubación se hizo a 4° C por 24 h. Los sueros fueron trabajados en diluciones dobles a partir de 1:5 y aquéllos que presentaron títulos 1:5 y 1:10 fueron considerados como negativos.

- d) Para la detección de anticuerpos contra *Actinobacillus pleuropneumoniae* fue utilizada una prueba de aglutinación en placa, denominada PLEUROTEST PAP, destinada para identificar directamente los anticuerpos capsulares de App contenidos en el suero del cerdo de cualquier edad; esta prueba presenta una especificidad del 97% y una sensibilidad del 86% y es capaz de diferenciar los anticuerpos producidos por una infección de los anticuerpos vacunales. Todas las muestras fueron sometidas a los serotipos 1, 3, 5 y 7, se trabajaron a 25° C y se realizaron dos lecturas, la primera a los cuatro minutos de realizada la prueba y la segunda lectura 4 min. después. Los sueros positivos fueron aquéllos en los que se pudo observar la presencia de grumos.
- e) Todos los sueros obtenidos cuando llegaron los animales, el primer día del experimento y el último día del mismo, fueron sometidos a las pruebas de seroneutralización e inmunoperoxidasa para el virus de la enfermedad de Aujeszky, ELISA para la detección de *Mycoplasma hyopneumoniae*, inmunofluorescencia para PRRS y la técnica de inmunoperoxidasa para el Rubulavirus porcino.

f) Durante las necropsias se describieron las lesiones macroscópicas, se realizaron esquemas para su posterior evaluación por planimetría y se obtuvieron muestras de los 14 animales para histopatología, las cuales fueron mantenidas en formol al 10% hasta el momento en que fueron trabajadas. En el laboratorio de Análisis Clínicos y Patología de FES-Cuautitlán campo 4. las muestras fueron procesadas con la técnica de inclusión en parafina y se tiñeron con hematoxilina y eosina (HE). Estas fueron lavadas, deshidratadas con alcoholes a diferentes concentraciones, incluidas en parafina y cortadas en el microtomo a un grosor de 5 μm . y colocadas en los porta-objetos. Posteriormente se sometieron al proceso de tinción en el cual primeramente las muestras fueron desparafinadas, rehidratadas, teñidas con hematoxilina, decoloradas, vueltas a teñir pero con eosina, deshidratadas y aclaradas. Por último fueron montadas para su posterior observación al microscopio.

RESULTADOS

Instalaciones.

Las dimensiones del corral y la colocación del bebedero automático y el comedero de tolva permitió a los animales limitar perfectamente el área limpia de la sucia y ubicar el área de descanso. Los animales podían tener libre acceso tanto al agua como al alimento. El tapete sanitario ayudo probablemente a controlar un poco la entrada de otros microorganismos que se encontraban en el ambiente y la cortina y luz eléctrica favoreció el control de temperatura y entradas de aire.

Distribución de grupos.

La distribución de grupos e identificación de los animales permitió llevar un control individual en cuanto al peso, temperatura y signos de los mismos. El período de observación de 15 días antes del inicio del experimento fue importante para que estos se adaptaran a las instalaciones, al manejo, alimento y a sus compañeros de grupo.

Manejo de los inóculos.

La dosis utilizada para el Rubulavirus porcino cepa LPM y la cepa de campo de App serotipo 1 fue la correcta ya que se logro infectar a los animales, situación que se pudo comprobar con la presentación de signos (aunque poco evidentes) y el aislamiento de ambos agentes.

La inoculación con la ayuda de la cámara de aerosolización permitió mantener a los animales en las mismas condiciones para la infección, el manejo de estos fue menor ya que sólo se necesitó introducirlos a la cámara . cerrar ésta e inocular el antígeno esperando que ellos lo respiraran. Dentro de la cámara la temperatura era más elevada por lo que los animales tendían a jadear, aumentando de esta manera la cantidad de aerosol inhalada por cerdo asegurando así la infección.

Temperatura.

El registro de temperaturas en los diferentes grupos se presento de la siguiente manera:

Grupo I.

Durante todo el periodo de observación y de acuerdo a lo reportado en la literatura los animales del grupo I presentaron temperaturas consideradas dentro de los rangos normales.

Solo en el día 1 ambos animales presentaron hipotermia.

Tabla 13. Registro de temperaturas y signos por día del grupo I.

No. del animal	Día	0	1	2	3	4	5	6	7	8	Tem. prom.
23	Tem. en °C	39.3	39.9	39.6	39.3	39.5	39.5	38.9	39.5	39.0	39.4
	Signos	sin signos	sin signos	sin signos	sin signos	sin signos	sin signos	sin signos	sin signos	sin signos	
38	Tem. en °C	39.3	39.7	39.1	38.8	39.3	38.7	38.6	38.9	38.8	39.0
	Signos	sin signos	sin signos	sin signos	sin signos	sin signos	sin signos	sin signos	sin signos	sin signos	
	Tem. prom.	39.3	39.8	39.35	39.05	39.4	39.1	38.75	39.2	38.9	39.2

Grupo II.

En el grupo dos, en el día cero dos de los cuatro animales presentaron hipotermia, en el día 1 todos los animales del grupo presentaron hipotermia, el día 2 todos los animales registraron temperaturas normales, el día 3, dos de cuatro animales presentaron hipotermia, el día 4 los animales registraron temperaturas normales y los días 5 y 6 sólo un animal presentó hipotermia. En los últimos dos días las temperaturas registradas se encontraron dentro de los rangos normales; por lo que se considera que la presencia de fiebre fue de tipo intermitente.

Tabla 14. Registro de temperaturas y signos por día del grupo II

Día	0	1	2	3	4	5	6	7	8	Tem. Prom.	No.
Tem. en °C	39.4	40.0	39.2	39.6	39.2	39.2	39.0	39.6	38.7	39.3	
Signos	sin signos	disnea leve	sin signos	sin signos	sin signos	disnea y conjuntivitis	disnea, conjuntivitis secreción nasal y ocular	conjuntivitis	conjuntivitis		5
Tem. en °C	39.3	39.9	39.5	39.7	39.2	39.3	39.2	39.4	38.7	39.3	
Signos	sin signos	disnea y secreción nasal	sin signos	sin signos	secreción nasal	sin signos	disnea y secreción nasal	sin signos	disnea y secreción nasal		15
Tem. en °C	40.3	40.0	39.6	40.0	39.2	39.7	40.0	39.4	39.2	39.7	
Signos	sin signos	sin signos	sin signos	sin signos	secreción nasal	disnea leve	disnea, depresión, conjuntivitis boqueo y respiración abdominal.	sin signos	disnea, secreción nasal y ocular y estornudos		26
Tem. en °C	39.9	40.0	39.4	39.0	39.0	39.3	38.9	39.1	39.6	39.3	
Signos	sin signos	sin signos	sin signos	sin signos	sin signos	disnea y estertores	disnea secreción nasal y respiración abdominal	sin signos	disnea severa y boqueo		30
Tem. prom	39.7	39.97	39.42	39.57	39.15	39.37	39.27	39.37	39.05	39.4	

Grupo III.

En el grupo III el día cero 3 animales presentaron hipotermia, los días 1 y 2, dos de cuatro, el día tres 1 de cuatro y a partir del cuarto día ningún animal presentó hipotermia por lo que se pudo observar que el número de animales que presentaron fiebre fue menor en comparación al grupo II

Tabla 15. Registro de temperaturas y signos por día del grupo III

Día	0	1	2	3	4	5	6	7	8	Tem. Prom.	No. de animal
Tem. en °C	39.2	39.4	39.1	39.1	39.5	39.6	39.3	39.3	39.6	39.3	10
Signos	sin signos	sin signos	sin signos	sin signos	sin signos	sin signos	sin signos	disnea leve	secreción nasal		
Tem. en °C	40.3	39.4	39.1	39.4	39.3	39.4	39.0	39.4	39.4	39.4	13
Signos	sin signos	sin signos	sin signos	sin signos	sin signos	sin signos	sin signos	disnea leve	secreción nasal		
Tem. en °C	40.2	39.9	39.9	39.9	39.3	39.0	38.8	38.9	38.8	39.4	16
Signos	sin signos	sin signos	sin signos	sin signos	sin signos	sin signos	conjuntivitis y disnea leve	disnea leve	secreción nasal		
Tem. en °C	39.9	40.0	39.9	39.2	39.5	39.3	39.1	39.0	39.4	39.5	19
Signos	sin signos	secreción nasal	sin signos	sin signos	sin signos	sin signos	disnea leve	disnea y estertores húmedos	tos, disnea y secreción nasal		
Tem. Prom.	39.9	39.67	39.5	39.4	39.4	39.32	39.05	39.15	39.3	39.4	

Grupo IV.

En el grupo IV en los días 0 y 1 todos los animales presentaron hipertermia, el día dos sólo 1 animal, el día tres 2 animales y los días cuatro cinco y seis tres de cuatro animales presentaron hipertermia, el día siete sólo uno y el último día ninguno. En el grupo IV aunque hubo mayor número de animales con hipertermia, el último día ningún animal presentó fiebre.

Tabla 16. Registro de temperaturas y signos por día del grupo IV

Día	0	1	2	3	4	5	6	7	8	Tem. Prom.	No. animal	de
Tem. en °C	40.1	40.3	39.2	39.5	39.8	40.6	39.7	39.3	39.1	39.7	4	
Signos	sin signos	sin signos	sin signos	sin signos	sin signos	disnea y estertores	disnea secreción nasal y ocular	sin signos	disnea y depresión			
Tem. en °C	39.9	40.0	39.1	39.5	39.0	39.5	39.8	39.5	39.2	39.5	6	
Signos	sin signos	sin signos	sin signos	sin signos	sin signos	disnea leve	disnea, secreción nasal y estertores húmedos	disnea	disnea y estornudos.			
Tem. en °C	40.1	40.0	40.4	39.7	40.1	40.2	39.4	39.8	39.4	39.9	22	
Signos	sin signos	sin signos	sin signos	sin signos	disnea	disnea, estertores, conjuntivitis y secreción nasal	disnea, secreción nasal y ocular, conjuntivitis y estertores húmedos	disnea secreción nasal	disnea y estertores			
Tem. en °C	40.1	39.9	39.5	39.7	39.7	40.0	40.6	39.3	39.5	39.8	43	
Signos	sin signos	sin signos	sin signos	sin signos	sin signos	disnea y estertores	disnea, secreción nasal y ocular	disnea secreción nasal	los, disnea y secreción nasal			
Tem. Prom.	40	40.05	39.5	39.6	39.65	40.07	39.87	39.47	39.3	39.7		

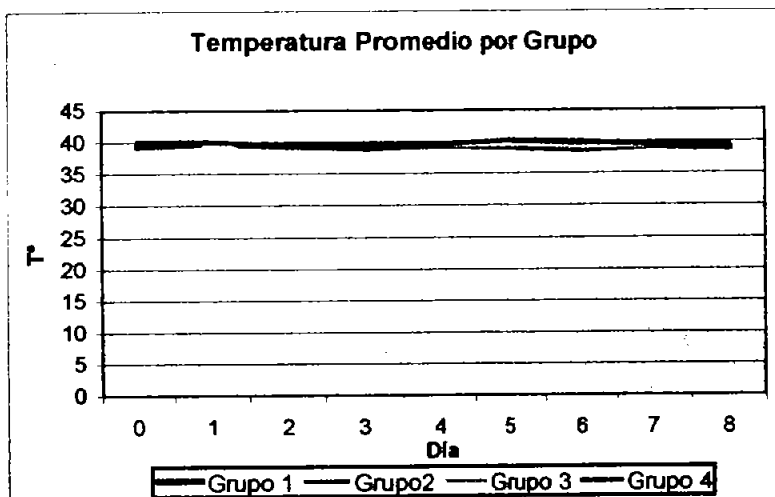


Figura 6. Temperatura promedio por grupo.

Signos clínicos.

- **Disnea.**

Grupo I : No se observó

Grupo II: Se presentó a partir del día uno en 2 animales pero desapareció y no es si no hasta el día 5 que se vuelve a presentar en 3 de 4 animales, el día 6 en los cuatro, en el día 7 desaparece y en el día 8 se vuelve a presentar en tres de cuatro y su presentación fue de leve a severa el último día.

Grupo III: Se presentó hasta el día seis en 2 de 4 animales, el día 7 en los cuatro y el día 8 sólo en uno. Su presentación siempre fue leve.

Grupo IV: La disnea se presentó hasta el día cinco en todos los animales y se mantuvo hasta el día 8 excepto en el día siete que sólo se observó en 3 animales. Su presentación fue de leve a moderada.

- **Secreción nasal.**

Grupo I : No se observó

Grupo II: Se presentó a partir del día uno en 1 animal pero desapareció y se volvió a presentar el día cuatro en dos animales, posteriormente el día seis en 3 animales, el día 7 no se presentó y reapareció el día 8 en 2 animales. Su presentación fue de leve a moderada.

Grupo III: Se presentó el día 1 en un animal y desapareció volviendo a presentarse hasta el día ocho en los 4 animales de manera evidente.

Grupo IV: Se presentó hasta el día cinco en 1 animal, el día seis en los 4 animales, el día siete en dos y el día ocho sólo en 1 animal. Su presentación fue de leve a moderada.

- **Tos.**

Grupo I y II : No se observó

Grupo III y IV : Se presentó hasta el día ocho en un sólo animal

- **Estertores húmedos.**

Grupo I : No se observó

Grupo II: El día cinco se presentó en 1 animal.

Grupo III: Se presentó el día siete en 1 animal.

Grupo IV: Se presentó hasta el día cinco en 3 animales y los días seis y ocho en 1 animal.

- **Boqueo y respiración abdominal**

Sólo se presentó en el grupo II los días seis y ocho en 2 y 1 animal respectivamente.

- **Secreción ocular**

Grupo I y III: No se presentó

Grupo II: El día seis y ocho en 1 animal

Grupo IV: El día seis 3 animales de los 4

- Conjuntivitis.

Grupo I: No presentó

Grupo II: El día cinco, siete y ocho se presentó en un animal y el día seis en dos.

Grupo III: El día seis en un animal

Grupo IV: El día cinco y seis en 1 animal.

- Estomudos.

Grupo I y III: No presentó

Grupo II y IV: El día ocho en 1 animal.

Tabla 17. Resumen de la presentación de signos en cada uno de los animales y grupos.

Grupo	No. de animal	Disnea	Secreción nasal	tos	Estertores húmedos	boqueo	Respiración abdominal	Secreción ocular	Conjuntivitis	Estomudos
I	23	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	38	-	-	-	-	-	-	-	-	-
II	5	+	+	-	-	-	-	+	+	-
	15	+	+	-	-	-	-	-	-	-
	26	+	+	-	-	+	+	+	+	+
	30	+	+	-	+	+	+	-	-	-
III	10	+	+	-	-	-	-	-	-	-
	13	+	+	-	-	-	-	-	-	-
	16	+	+	-	-	-	-	-	+	-
	19	+	+	+	+	-	-	-	-	-
IV	4	+	+	-	+	-	-	+	-	-
	6	+	+	-	+	-	-	-	-	+
	22	+	+	-	+	-	-	+	+	-
	43	+	+	+	+	-	-	+	-	-

Lesiones macroscópicas.

Las lesiones macroscópicas se limitaron a una neumonía fibrino-hemorrágica de moderada a severa dependiendo del grupo afectado

Grupo I : Macroscópicamente los dos animales no presentaron lesiones aparentes

Grupo II y III : Tres de cuatro animales presentaron neumonía fibrino hemorrágica de leve a moderada.

Grupo IV: Sólo 1 animal presentó lesión pero la extensión de la lesión fue mayor a la de los otros animales de los otros grupo.

En las siguientes tablas se señala el porcentaje de lesión por individuo y grupo.

Tabla 18. Valores obtenidos por planimetría.

Pulmón control	
Peso del pulmón cara dorsal	0.5401
Peso del pulmón cara ventral	0.5375
Peso total	1.0776

Tabla 19 . Porcentaje de lesión macroscópica por animal y promedio por grupo.

Grupo	No. de animal	Lesión dorsal	Lesión ventral	% de lesión	% de lesión por grupo
I	23	0.0000	0.0000	0	0
	38	0.0000	0.0000	0	
II	5	0.0224	0.0217	5	3
	15	0.0156	0.0217	4	
	26	0.0065	0.0083	2	
	30	0.0000	0.0000	0	
III	10	0.0000	0.0000	0	3
	13	0.0100	0.0059	2	
	16	0.0451	0.0440	9	
	19	0.0093	0.0000	1	
IV	4	0.0000	0.0000	0	2.25
	6	0.0000	0.0000	0	
	22	0.0000	0.0000	0	
	43	0.0408	0.0543	9	

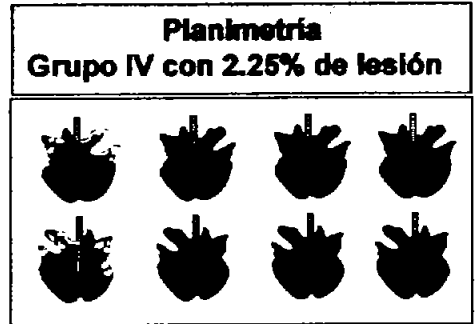
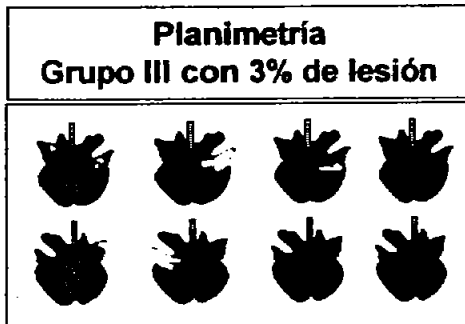
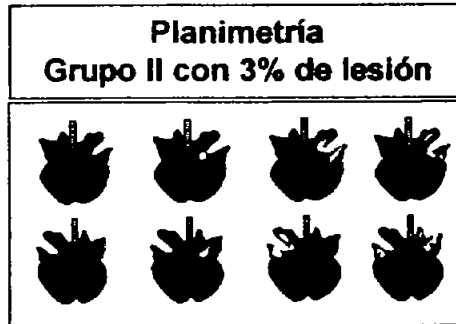


Figura 7. Planimetrías por grupos.

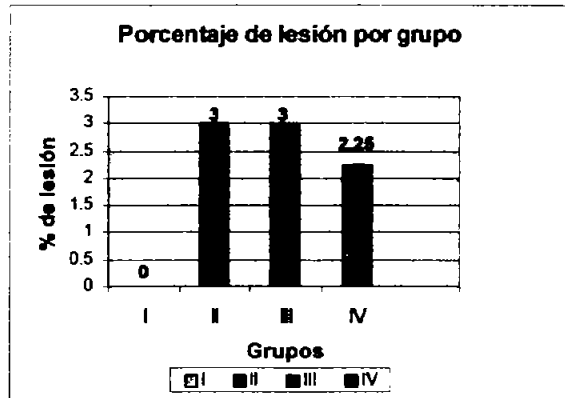


Figura 8. Porcentaje de lesión por grupo.

Lesiones microscópicas.

A continuación se hace una descripción de las lesiones observadas al microscopio y en donde la presentación de lesiones y grado de severidad fue variable dependiendo del grupo analizado.

Tabla 20. Descripción de lesiones histopatológicas

Grupo	No. de animal	Descripción histopatológica
I	23	Congestión, edema e hiperplasia linfóide peribronquial, leve incremento de neumocitos II y algunos neutrófilo en vasos sanguíneos.
	38	Enfisema e hiperplasia linfóide peribronquial leve y algunos neutrófilo en vasos sanguíneos.
II	5	Congestión moderada, edema leve, algunos neutrófilo en vasos sanguíneos. Engrosamiento de paredes alveolares con neutrófilos. Áreas con hiperplasia linfóide peribronquial.
	15	Congestión, presencia de eosinófilos y neutrófilos en vasos sanguíneos, enfisema severo, áreas de hiperplasia linfóide peribronquial, paredes alveolares engrosadas con mononucleares y polimorfonucleares.
	26	Congestión, edema interseptal, hemorragias en pleura. Áreas con abundantes eosinófilos en paredes alveolares. Hiperplasia linfóide perivascular. Vasos sanguíneos con neutrófilos. Eritrocitos en luz bronquial y bronquiolar.
	30	Congestión severa, edema interseptal, hemorragias en pleura. Áreas con abundantes eosinófilos en paredes alveolares. Hiperplasia linfóide perivascular. Vasos sanguíneos con neutrófilos. Eritrocitos en luz bronquial y bronquiolar.
III	10	Inicio de trombo en vasos sanguíneos con presencia de fibrina, eosinófilos, neutrófilos y restos celulares. Hiperplasia linfóide perivascular y peribronquial. Uno que otro macrófago en luz alveolar. Enfisema leve.
	13	Presencia de histiocitos y restos celulares en luz alveolar. Hiperplasia linfóide perivascular y peribronquial, enfisema, congestión leve algunos neutrófilo en V.S. Leve engrosamiento de paredes alveolares con neutrófilos.
	16	Severa bronconeumonía abundantes neutrófilos en luz alveolar y bronquios y bronquiolos, uno que otro macrófago. Congestión leve.
	19	Congestión leve, hiperplasia leve linfóide peribronquiolar, mononucleares (linfocitos) en paredes alveolares.
IV	4	Enfisema, hiperplasia linfóide perivascular y peribronquial. Engrosamiento de paredes alveolares con uno que otro neutrófilo y macrófago. Congestión leve.
	6	Congestión moderada, enfisema, hiperplasia linfóide peribronquial y perivascular. Área con hemorragia leve, edema interseptal leve. Vasos sanguíneos con pocos neutrófilos y mononucleares.
	22	Hiperplasia linfóide peribronquial y perivascular. Congestión leve. En vasos sanguíneos algunos neutrófilos y uno que otro mononuclear. Áreas con hemorragia leve. Engrosamiento leve de paredes alveolares con algunos neutrófilos.
	43	Áreas con hipercelularidad, bronconeumonía (neutrófilos en luz alveolar bronquios y bronquiolos) Congestión leve, neutrófilos y mononucleares en V.S.

En la siguiente tabla se presentan el tipo de lesiones y el número de animales que presentaron alguna de estas lesiones por grupo como se puede observar el grupo II presentó el mayor número de lesiones microscópicas

Tabla 21. Número de lesiones por grupo.

No.	Lesiones	Grupos			
		I	II	III	IV
1	Congestión leve a severa	1/2	4/4	3/4	4/4
2	Edema	1/2	3/4	0/4	1/0
3	Hiperplasia linfoide peribronquial o perivascular	2/2	4/4	4/4	4/4
4	Incremento de neumocitos II	1/2	0/4	0/4	0/4
5	Neutrófilos en vasos sanguíneos	2/2	4/4	2/4	3/4
6	Enfisema	1/2	1/4	1/4	2/4
7	Paredes alveolares engrosadas con mononucleares y/o polimorfonucleares	0/2	2/4	3/4	3/4
8	Eosinófilos en vasos sanguíneos	0/2	1/4	1/4	1/4
9	Hemorragias	0/2	2/4	0/2	2/4
10	eosinófilos en paredes alveolares	0/2	2/4	0/2	0/2
11	Áreas con abundantes eosinófilos	0/2	1/4	0/2	0/2
12	Eritrocitos en luz bronquial y bronquiolar	0/2	2/4	0/2	0/2
13	trombo	0/2	0/2	1/4	0/2
14	histiocitos y restos celulares en luz alveolar	0/2	0/2	1/4	0/2
15	Macrófagos en la luz alveolar	0/2	0/2	2/4	1/4
	Total de lesiones	8	28	18	21

Serología.

Todos los animales utilizados en nuestro experimento fueron negativos a App, Rvp, VEA, VPRRS y *M. Hyopneumoniae*. Para obtener estos resultados los animales fueron sangrados al llegar a las instalaciones, antes de iniciar el experimento y al final del mismo y los sueros fueron sometidos a las siguientes pruebas:

- Aglutinación en placa (Pleurotest) para App.

- Inmunoperoxidasa e inhibición de la hemoaglutinación para el Rubulavirus porcino
- Inmunoperoxidasa y seroneutralización para el virus de la enfermedad de Aujeszky.
- Inmunofluorescencia para PRRS
- ELISA para la detección de *Mycoplasma hyopneumoniae*.

Obteniendo los siguientes resultados:

Tabla 22. Resultados de serología del grupo I

No. de animal	App Pleurotest	Rvp Ip	Rvp HI	E. A Ip	E. A SN	PRRS IF	Mycoplasma ELISA
23	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg
38	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg

Tabla 23. Resultados de serología del grupo II

No. de animal	App Pleurotest	Rvp Ip	Rvp HI	E. A Ip	E. A SN	PRRS IF	Mycoplasma ELISA
5	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg
15	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg
26	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg
30	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg

Tabla 24. Resultados de serología del grupo III

No. de animal	App Pleurotest	Rvp Ip	Rvp HI	E. A Ip	E. A SN	PRRS IF	Mycoplasma ELISA
10	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg
13	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg
16	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg
19	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg

Tabla 25. Resultados de serología del grupo IV

No. de animal	App Pleurotest	Rvp Ip	Rvp HI	E. A Ip	E. A SN	PRRS IF	Mycoplasma ELISA
4	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg
6	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg
22	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg
43	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg

Ip: Inmunoperoxidasa
 IF: Inmunofluorescencia
 SN Seroneutralización
 HI inhibición de la hemoaglutinación

Aislamiento de microorganismos.

Con las muestras obtenidas en la necropsia se intento el aislamiento de ambos agentes logrando aislar *Actinobacillus pleuropneumoniae* en 7 animales y Rubulavirus porcino en 4 cerdos; todos los demás animales fueron negativos.

Grupo I: No se aisló ningún microorganismo

Grupo II: Sólo en un animal se logró aislar el Rubulavirus porcino en el segundo pase y todas las muestras trabajadas para el aislamiento de App fueron negativas.

Grupo III: En todos los animales se logró aislar App serotipo 1 y fueron negativos al aislamiento de Rubulavirus.

Grupo IV: App se logró aislar en tres animales, al igual que el Rubulavirus porcino. (ver tablas)

Tabla 26. Resultados del aislamiento bacteriológico y viral del grupo I

No. de animal	Aislamiento de App de pulmón	Aislamiento de App de Tonsila y pulmón	Aislamiento viral 1 ^{er} pase	Aislamiento viral 2 ^o pase	% de lesión a la necropsia
23	-	-	-	-	0
38	-	-	-	-	0

Tabla 27. Resultados del aislamiento bacteriológico y viral del grupo II

No. de animal	Aislamiento de App de pulmón	Aislamiento de App de Tonsila y pulmón	Aislamiento viral 1 ^{er} pase	Aislamiento viral 2 ^o pase	Porcentaje de lesión a la necropsia
5	-	-	-	-	5
15	-	-	-	+	4
26	-	-	-	-	2
30	-	-	-	-	0

Tabla 28. Resultados del aislamiento bacteriológico y viral del grupo III

No. de animal	Aislamiento de App de pulmón	Aislamiento de App de Tonsila y pulmón	Aislamiento viral 1 ^{er} pase	Aislamiento viral 2 ^o pase	Porcentaje de lesión a la necropsia
10	+	+	-	-	0
13	-	+	-	-	0
16	-	+	-	-	9
19	-	+	-	-	1

Tabla 29. Resultados del aislamiento bacteriológico y viral del grupo IV

No. de animal	Aislamiento de App de pulmón	Aislamiento de App de Tonsila y pulmón	Aislamiento viral 1 ^{er} pase	Aislamiento viral 2 ^o pase	Porcentaje de lesión a la necropsia
4	+	+	-	+	0
6	-	+	-	-	0
22	-	-	-	+	0
43	-	+	-	+	9

Tabla 30. Resumen de las lesiones a la necropsia, aislamiento bacteriológico y viral.

Grupo	Lesiones a la necropsia	Aislamiento bacteriológico		Aislamiento viral a partir de riñón, bazo, tonsila y pulmón	
		Pulmón	Pulmón y Tonsila	1 ^{er} pase	2 ^o pase
I	negativos	negativos	negativos	negativos	negativos
II	3/4	negativos	negativos	negativos	1/4
III	3/4	1/4	4/4	negativos	negativos
IV	1/4	1/4	3/4	negativos	3/4

Ganancia de peso y conversión alimenticia

Un día antes de la nebulización con RVP (día 0) y al final del experimento (día 8); todos los animales fueron pesados obteniendo la siguiente ganancia diaria de peso y conversión alimenticia por animal y por grupo.

Tabla 31. Peso de los animales al inicio y al final del experimento, ganancia diaria de peso y conversión alimenticia por animal.

Grupo	No. del animal	Peso (Kg.) al inicio del experimento	Peso (Kg.) al final del experimento	Ganancia diaria de peso (g)	Consumo de alimento en Kg.	Conversión Alimenticia
I	23	18.3	20.9	325	6	2.3
	38	18.6	24.7	762	6	0.98
II	5	26.3	32.8	812	8	1.23
	15	22.5	29.7	900	8	1.11
	26	27.1	33.45	793	8	1.25
	30	23.1	27.7	575	8	1.74
III	10	25	28.7	462	8	2.16
	13	28.4	30.7	287	8	3.48
	16	29.5	33.4	487	8	2.05
	19	28.8	34.6	725	8	1.38
IV	4	20.4	28.4	1000	7	0.87
	6	16.5	23.8	912	7	0.96
	22	21.3	28.0	837	7	1.04
	43	25	31.0	750	7	1.17

Tabla 32. Ganancia total de peso, ganancia diaria de peso y conversión alimenticia promedio por grupo.

Grupo	Ganancia total de peso en Kg.	Ganancia diaria de peso en Kg.	Conversión Alimenticia en Kg.
I	4.350	0.543	1.640
II	6.162	0.770	1.330
III	3.925	0.490	2.267
V	7.000	0.874	1.010

Como se puede observar el grupo IV es el que presentó la mejor ganancia de peso diaria y total y mejor conversión alimenticia, como segundo lugar el grupo II, tercer lugar el I y cuarto lugar el grupo III.

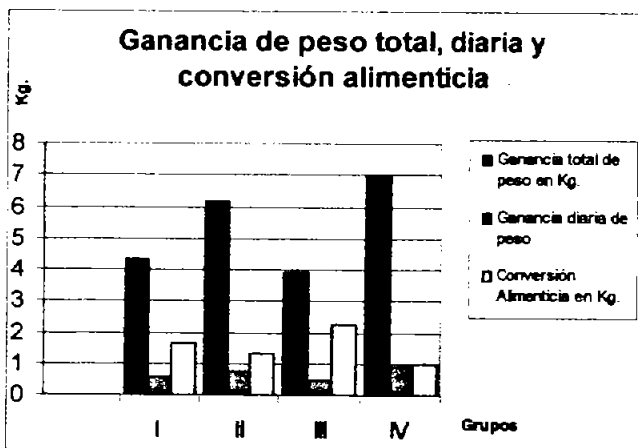


Figura 9. Ganancia de peso y conversión alimenticia.

DISCUSIÓN

La prevención, control y solución de las enfermedades respiratorias implica algo más que sólo prevenir la entrada de agentes infecciosos e involucra un correcto balance entre los diferentes factores bióticos y abióticos que rodean al animal.

Las instalaciones representan un aspecto fundamental en la presentación de una enfermedad; la resistencia específica de los animales a los microorganismos depende en gran medida del ambiente en que se encuentren los cerdos y se considera que alcanza su máximo nivel si este ambiente es cómodo y de bajo estrés. La presión de la infección se puede controlar mediante la prevención de la entrada de agentes patógenos a la granja y mediante la aplicación de altos estándares de higiene.⁵⁷

En el experimento el área proporcionada para cada animal fue superior (3.0 m^2 por cerdo) a la recomendada que es de 0.7 m^2 por cerdo.⁵⁷ Antes y durante el experimento se establecieron procesos eficientes de limpieza y desinfección, que aparentemente limitaron la entrada de otros microorganismos. Los pisos fueron adecuados para los animales, ya que nunca presentaron problemas de pesuñas y se desplazaban perfectamente de un lugar a otro. Con las cortinas de polietileno pudimos establecer un sistema de entrada indirecta de aire y mantuvimos una baja concentración de gases nocivos en las instalaciones. El cuidado de los animales fue casi personalizado, la comida siempre se les daba a la misma hora y la temperatura en promedio se mantenía a 18°C dentro de los corrales, con lo que se concluye que los animales se encontraban en un ambiente de bajo estrés.

Al proceder de un solo crador, introducirlos al mismo tiempo a las instalaciones y no hacer movimientos de animales durante el experimento se disminuyó por mucho la posibilidad de entrada a otros microorganismos. Probablemente todos los factores antes mencionados incrementaron en los animales la resistencia a los microorganismos a los que fueron enfrentados de manera experimental.

La distribución por grupos de manera aleatoria y el período de adaptación nos permitió una mejor identificación en cuanto los cambios que presentaban cada uno de los animales durante el experimento y un mejor manejo de estos reduciendo mucho situaciones de estrés. Los animales se acostumbraron tanto al manejo y a las personas que los cuidamos que cuando necesitamos introducirlos a la cámara de nebulización o trasladarlos a la zona de pesaje y necropsias fue muy sencillo moverlos.

La dosis utilizada para la infección con Rubulavirus porcino, se determinó a partir de estudios previos en los que se comprobó su efectividad.^{25,30}

En un estudio cuyo objetivo era determinar la dosis mínima de App que se podía utilizar para infectar a animales por medio de un sistema de nebulización, se trabajó con dosis de 2×10^4 UFC/ml, hasta 2×10^8 determinando como dosis mínima 2×10^4 UFC/ml ésta misma dosis también fue utilizada para comprobar la interacción del virus de Aujeszky y *Actinobacillus pleuropneumoniae* dando magníficos resultados⁸. El conocimiento de ambos estudios aseguraron la posibilidad de poder infectar exitosamente a nuestros animales ya que la dosis utilizada se encontraba dentro del rango anteriormente establecido.

Con lo que respecta a los métodos de inoculación que pudieron haberse utilizado para infectar a los animales en experimentación, se hace mención de las vías intranasal o la endotraqueal. mecanismos que aunque aseguran la infección de los animales, se requiere de un mayor manejo, habilidad para sostener a los animales, más personal y mayor inversión de tiempo en comparación con la utilización de la cámara de nebulización para aerosolización. método que se ha venido usando por diferentes grupos de investigadores y desde hace varios años por un grupo multidisciplinario de FES-Cuautitlán que ha trabajado con los procesos neumónicos del cerdo, logrando infectar de manera exitosa por aerosolización a cerdos de diferentes edades y con diferentes antígenos incluyendo a *Actinobacillus pleuropneumoniae* y Rubulavirus

porcino.^{3, 28} Todos estos antecedentes aseguran que el método de inoculación seleccionado para nuestro experimento fue el adecuado.

Las temperaturas registradas en los animales del grupo control se encontraron dentro del rango normal, ya que según Straw y col. (1999) indican que la temperatura normal para animales de estos pesos es de 39.3 ± 0.3 . Aunque el día 1 del experimento ambos animales del grupo presentaron hipotermia, no mostraron ningún otro signo de enfermedad, por lo que probablemente esta elevación de temperatura pudo deberse al manejo ya que ese día se hizo la primera nebulización, que en el caso de este grupo se hizo con medio estéril (MEM).

Al principio del experimento algunos de los animales del grupo II presentaron fiebre, pero conforme fue pasando el tiempo la hipotermia fue haciéndose de tipo intermitente, al final del experimento los animales registraron temperaturas normales. El día tres en algunos de estos animales se observó hipotermia y el día cuatro se observaron los primeros signos y es en ese momento en el que se decide inocular el Rubulavirus porcino.

Al principio del experimento en el grupo III se presentó hipotermia, pero al pasar el tiempo las temperaturas que presentaron los animales se encontraron en el rango normal. El número de animales que presentaron hipotermia en comparación con el grupo II fue menor.

En el grupo IV los animales presentaron hipotermia desde el principio del experimento y aunque ésta también fue intermitente, se presentó de manera más constante en comparación al grupo II, aunque al final del experimento todos los animales presentaron temperaturas normales.

Las temperaturas registradas en los grupos II, III y IV presentan dos aspectos interesantes, al principio del experimento los animales presentan hipotermia y al final del periodo de observación todos los animales registran rangos normales de temperatura, aunque en el desarrollo del experimento exista aparentemente un mayor número de casos de hipotermia en el grupo IV.

La disnea no se presentó en el grupo control, en el grupo II se presentó desde el primer día de inoculación, desapareció y volvió a presentarse el día 5 en más de un animal y al final del experimento de manera severa. En el grupo III la disnea se presentó hasta el día 6, pero disminuyó el día ocho y su presentación siempre fue leve. En el grupo IV la disnea se presentó a partir del día cuatro y al final todos los animales la presentaron de manera moderada. Aparentemente la disnea se presentó en un mayor número de animales en el grupo IV, pero el grado de severidad fue mayor en uno de los animales del grupo II.

La secreción nasal no se observó en el grupo I, en el grupo II se presentó a partir del día uno pero desapareció y posteriormente su presentación fue intermitente y siempre fue de leve a moderada. En el grupo III se presentó el día 1 y desapareció, volviendo a presentarse hasta el día ocho en los 4 animales de manera evidente y en el grupo IV se presentó hasta el día cinco pero se mantuvo hasta el día ocho de manera intermitente y de leve a moderada. La secreción nasal en el grupo II y IV fue muy similar aunque en el grupo III al final fue más severa.

La tos sólo se observó en el grupo II y IV hasta el último día y en un solo animal.

Los estertores húmedos se presentaron en el grupo II y III en un solo animal y en el grupo IV en 4 animales. El boqueo y la respiración abdominal sólo se presentó en el grupo II. La secreción ocular se presentó en dos animales del grupo II y en tres del grupo IV. La conjuntivitis en dos animales en el grupo II y uno en el IV y los estornudos se presentaron tanto en el grupo II como el IV en un animal. Aunque en ciertos momentos el grupo IV presenta mayor número de animales con signos en comparación con el grupo II, al final el número de animales con signos clínicos es el mismo.

Las lesiones macroscópicas se limitaron a una neumonía fibrino-hemorrágica de moderada a severa dependiendo del grupo afectado. Macroscópicamente, el grupo I no presentó lesiones aparentes. En el grupo II y III, 3 de 4 animales presentaron lesiones y el porcentaje de planimetría fue el mismo (3%). En el grupo IV sólo un animal presentó lesión por lo que el porcentaje de planimetría por grupo fue menor al de los grupos II y III. Si al final se hace una comparación entre

el grupo II y IV en cuanto a signos, temperatura y presencia de lesiones en los animales, ambos grupos resultan ser muy similares.

En los resultados ya se describieron cada una de las lesiones microscópicas que presentaron los animales de cada grupo, encontrándose que el mayor número de lesiones se presentan en el grupo II seguido del grupo IV. Las lesiones observadas en la mayoría de los pulmones nos sugieren que para este proyecto se utilizó una cepa de App de poca virulencia, ya que solamente el animal 10 presentó evidencia de trombos, lesión característica de una infección con App⁵⁰. Es importante mencionar que el animal 10 pertenece al grupo III de App y que a partir de sus tejidos se pudo lograr el aislamiento del microorganismo.

Los pulmones del animal 23 mostraron incremento de neumocitos tipo II, este cambio se observa en casos de infección con App⁵⁴, el animal pertenecía al grupo I por lo que es probable que se haya infectado vía aérea o por medio de algún vehículo.

La mayoría de animales presentaron hiperplasia linfoide peribronquial y perivascular, lesión característica de infección con *Mycoplasma*.⁴² Es probable que se pudieran haber contaminado ya que del otro lado de las instalaciones se trabajaba con *Mycoplasma hyopneumoniae*.¹² Otra evidencia de esta contaminación es que al principio del experimento los animales de los grupos II, III y IV, presentaron hipotermia y algunos disnea o secreción nasal. Por otra parte, el grupo I, aunque no se le inoculó algún microorganismo y macroscópicamente no presentó lesiones ni signos, si presentó hiperplasia linfoide peribronquial, lesión característica de la infección con *Mycoplasma*.¹²

En relación a la presencia de lesiones producidas por el Rubulavirus, la literatura describe focos de neumonía intersticial con engrosamiento del septo e infiltración de células mononucleares.⁴⁷ Los animales con los números 6, 19 y 43 presentaron células mononucleares, los animales 4 y 5 mostraron engrosamiento de paredes alveolares y el 15 y

22 presentaron engrosamiento de paredes alveolares con mononucleares. Todos los animales, a excepción del número 19, fueron inoculados con Rvp.

Todos los animales utilizados en el experimento fueron negativos a App, Rvp, VEA, VPRRS y *M. hyopneumoniae*, concluyendo que aunque al inicio del experimento contábamos con animales libres de anticuerpos contra los diferentes antígenos trabajados, al final siguieron siendo negativos porque el periodo experimental fue muy corto y la seroconversión en los animales fue mínima y por lo tanto no pudo ser detectada con las pruebas serológicas convencionales.

Con las muestras obtenidas en la necropsia se intentó el aislamiento de ambos agentes logrando aislar *Actinobacillus pleuropneumoniae* en 7 animales y Rubulavirus porcino en 4 cerdos; todos los demás animales fueron negativos.

Con lo que respecta a la presencia de lesiones y su relación con los aislamientos, ya sea de App y/o Rvp, el grupo II presentó 3 animales con lesión y sólo en 1 se pudo aislar el Rvp. En el grupo III que fue inoculado con App. 3 animales presentaron lesiones evidentes pero en los cuatro animales se aisló el microorganismo. El grupo IV de App y Rvp sólo presentó un animal con lesiones evidentes, sin embargo se pudo aislar App y Rvp en tres animales respectivamente. Estos resultados nos indican que los animales fueron infectados correctamente, ya que pudimos aislar el microorganismo de sus órganos pero las lesiones encontradas y los resultados obtenidos en la planimetría no nos dan evidencias de ningún sinergismo.

Un día antes de la nebulización con Rvp (día 0) y al final del experimento (día 8), todos los animales fueron pesados para obtener ganancia diaria de peso y conversión alimenticia por animal y por grupo.

Al inicio del experimento los pesos de los animales fueron muy variados, lo que sugiere la presencia de animales retrasados, esto dificulta la comparación individual sobre ganancia de peso y conversión alimenticia, por lo que el análisis se realizó por grupo.

De acuerdo con Araiza, A. (Comunicación personal, 2002) sobre el Posible Comportamiento del Cerdo, la ganancia diaria de peso para estos animales debe ser de 0.586-0.600 Kg., por lo que podemos ver que el grupo I y III están por debajo y que la ganancia diaria de peso en el grupo II y en el IV es superior. Al comparar con la clasificación de Straw, B. et al. (1999) que menciona GDP baja (0.477-0.545 Kg.), moderada (0.545-0.614 Kg.) e ideal (0.614-0.682 Kg.), los grupos I y III se localizan dentro de la GDP baja y el II y IV supera a la ideal. Con lo que se refiere a la conversión alimenticia para animales entre la 10ª y 11ª semana, los rangos oscilan entre 2.187 y 2.358 Kg., encontrando que los grupos I, II y IV tienen una muy buena conversión alimenticia y el grupo III está dentro del rango. En lo referente al consumo diario de alimento, Araiza, A. (Comunicación personal, 2002) reporta que animales de esa edad consumen entre 1.281 y 1.415 Kg. de alimento y nosotros limitamos a los animales a 1 Kg. de alimento diario. Probablemente el limitarles el alimento afectó la GDP, por lo menos en el grupo III. Los valores obtenidos por grupo nos señalan que el grupo III, inoculado sólo con App, fue el que obtuvo una menor ganancia diaria y total de peso y una peor conversión alimenticia, debido probablemente a que los animales que integraban a ese grupo eran más homogéneos en peso y existía más competencia y no tanto al efecto del microorganismo.

CONCLUSIONES

Aunque los signos observados en los animales después de la inoculación de los agentes sugieren un proceso de tipo neumónico acompañado con fiebre en algunos animales, ni las temperaturas ni los signos fueron constantes, encontrándose una repentina disminución de temperatura de un día para otro y/o desaparición de signos. Sólo en el grupo IV tanto signos, como temperaturas fueron más constantes. sin embargo, al hacer comparaciones entre el grupo II y IV en cuanto a signos, lesiones macroscópicas y microscópicas y presencia de hipotermia en los animales, ambos grupos resultan ser muy similares. Es probable que el tiempo del experimento haya sido un factor determinante para hacer más evidente la interacción entre estos dos microorganismos, ya que en la literatura se ha reportado para el Rubulavirus porcino la presentación de signos hasta después de 10 días a nivel experimental.^{1,4,24,36,37}

Los resultados de los aislamientos bacteriológicos fueron muy positivos, ya que de 8 animales infectados con App. en 7 se pudo aislar el microorganismo, siendo más efectivo el aislamiento cuando la muestra era una molienda de pulmón más tonsila.

Con lo que respecta al Rubulavirus porcino, sólo del 50% de los animales infectados se pudo aislar el microorganismo y esto sucedió en el segundo pase, lo que concuerda con la literatura en donde se reporta la recuperación del microorganismo en el segundo y hasta en tercer pase.

Los resultados de serología fueron negativos para ambos microorganismos en todos los grupos, posiblemente el tiempo del experimento limitó la respuesta serológica de los animales, ya que la literatura señala que deben pasar por lo menos 10 días en el caso de Rvp para obtener algún resultado a nivel experimental. En el caso de los otros agentes pudimos comprobar que los animales se mantuvieron negativos durante todo el experimento.

Por lo tanto concluimos que los resultados obtenidos no muestran evidencias de un sinergismo entre *Actinobacillus pleuropneumoniae* y Rubulavirus porcino: ya que los signos y lesiones fueron

similares en los grupos II y IV y aunque las lesiones macroscópicas no fueron las esperadas, las lesiones microscópicas encontradas nos sugieren, la presencia de un agente viral y uno bacteriano. En el caso de PCP, las lesiones si concordaron con lo esperado. Además se logró aislar a ambos agentes.

Por otro lado es muy importante tomar en cuenta que las condiciones ambientales con las que se trabajaron, aunque no fueron las ideales, disminuyeron mucho las condiciones de estrés a las que de manera natural se someten a los cerdos en el campo, pues las condiciones de las instalaciones y el manejo, los espacios, el control de corrientes de aire y la temperatura ambiente constante favorece una adecuada respuesta de los animales a las infecciones.

Se sugiere repetir el experimento con un mayor número de animales e incluir técnicas como Inmunohistoquímica y PCR y aumentar tiempos de observación y probando con otra cepa de Rubulavirus de mayor virulencia.

BIBLIOGRAFÍA

1. Arellanes A., Fuentes R. et al.: Inoculación experimental del Paramyxovirus del ojo azul en el gato doméstico (*Felis catus*). Vet. Mex. 25 (3) 1994.
2. Balconi I. : Diagnóstico y manejo de las interacciones infecciosas que inciden en la producción porcina. CERDOS- SWINE , Publicación de Média Relaciones. Año 2 No. 9 Enero-Febrero. 12-16 México 1998.
3. Batista L. : Interacción del PRRS con otros agentes. Acontecer Porcino. Vol. X, No. 52, Diciembre-Enero , 14-18, México . 2001-2002.
4. Carreón N.R. : Epidemiología del Paramyxovirus porcino en México. First International Symposium Upon Pig Paramyxovirus. Nov, México, 1994.
5. Ciprian, A., Mendoza E. S. : *Actinobacillus pleuropneumoniae* agente responsable de la Pleuroneumonía Contagiosa Porcina. Memorias del Primer Ciclo Nacional de Afecciones Respiratorias del Cerdo. Solvay Animal Health y Coordinación General de Estudios de Posgrado de la FES-Cuautitlán. Pág. 83-94. México, 1994.
6. Ciprian, A., Mendoza E. S. : Apéndice IV; Pleuroneumonía Contagiosa Porcina. Memorias del Primer Ciclo Nacional de Afecciones Respiratorias del Cerdo. Solvay Animal Health y Coordinación General de Estudios de Posgrado de la FES-Cuautitlán Pág. 126-131. México, 1994.
7. Ciprian C. Mendoza E. : Diagnóstico Serológico y control de las Enfermedades del Complejo Respiratorio Porcino. CERDOS- SWINE. Año 4 ,No. 48. Octubre, 32-38, México, 2001.
8. Ciprian, A., Mendoza E. S. Cruz S.T. : Neumonías por la interacción entre bacterias y bacterias y de virus con bacterias en el cerdo. Memorias del Primer Ciclo Nacional de Afecciones Respiratorias del Cerdo. Solvay Animal Health y Coordinación General de Estudios de Posgrado de la FES-Cuautitlán. Pág. 73-80. México. 1994.

9. Clark K.: Prevención de las enfermedades respiratorias: La experiencia de los Estados Unidos. Pigs- Misset, Especial de Enfermedades Respiratorias. Solvay Animal Health, Septiembre, 6-7. 1995.
10. Corona E. : Porcine Paramyxovirus (Blue eye disease). The Pig Journal No. 45, 115-118, 2000.
11. Correa G. Martinez L. And Rosales E.: Presence of Porcine Paramyxovirus (PPMV) antibodies in pig sera from México collected before 1980. First International Symposium Upon Pig Paramyxovirus. Nov, México, 1994.
12. Díaz E. : Complejo Respiratorio Porcino: Solución y manejo. Los porcicultores y su entorno, año 5, No. 28, julio-agosto 139-145. 2002.
13. Doporto D. J. M. : El Control y Erradicación del Ojo Azul (Experiencias de campo y/o experimentales) Acontecer Porcino. Vol. XII, No. 63 Octubre-Noviembre. 84-90, México, 2003.
14. Elías F. Rodríguez Ferri: Caracterización y prevalencia de cepas de *Actinobacillus pleuropneumoniae* en España Publicado en ANAPOR Presentado en SEPOR, Lorca, Septiembre 2001. <http://www.exopol.com/general/circulares/94circ.html>.
15. Estrada R.: Control de *Actinobacillus pleuropneumoniae* mediante vacunación y/o Medicación e impacto económico. Memorias del Primer Ciclo Nacional de Afecciones Respiratorias del Cerdo. Solvay Animal Health y Coordinación General de Estudios de Posgrado de la FES-Cuautitlán. Pág 99-106. México. 1994.
16. Estrada R. R. : Presión de Infección y Enfermedades Respiratorias del Cerdo. CERDOS- SWINE Publicación de Midia Relaciones. Año 2 No. 7 Agosto. 16-18, México, 1997.
17. Falcón, A. (1989) Efecto del Virus de la Enf. de Aujeszky (Pseudorabia) sobre la presentación de PCP. 1-7. Memorias del AMVEC

- 18 Fuentes, M C and Pijoan C. : Pneumonia in pigs induced by intranasal challenge exposure with pseudorabies virus and *Pasteurella multocida* American Journal Of Veterinary Research 48. 1446-1448. 1987.
19. Gómez M., Gómez J Navarro A., Sánchez S et al : Enfermedades Respiratorias de Origen Bacteriano. PORCI.(Patología cardiorrespiratoria) No. 19. 11-19 España. 1994.
20. Gottschalk M. Manejos y alternativas para el control de la pleuroneumonía contagiosa. V Reunión Anual de Producción Porcina. CAJEME , 81-86, México 2004.
21. Gutiérrez M C, Tascon C. R. et al.: *Actinobacillus pleuropneumoniae*, PORCI.(Actinobacillus pleuropneumoniae y pleuroneumonía porcina) No. 37 , Enero,15-32 España. 1997.
22. Gutiérrez M. C, Suárez E. et al.: Epidemiología y formas clínicas. PORCI.(Actinobacillus pleuropneumoniae y pleuroneumonía porcina) No. 37 , Enero,47-60 España. 1997.
23. Hernández C. R., Chávez G. G. Y Gutiérrez P. J.: Identificación de *Actinobacillus pleuropneumoniae* biotipo 1, serotipo 1, de pulmones de cerdos con y sin lesiones neumónicas utilizando la técnica de inmunohistoquímica. Vet. Mex. 33 (4) México, 2002.
24. Hernández L., Ramírez M., et al. : Neumonitis inducida por el Rubulavirus porcino. Rev INER : 10(4): 250-255 México, 1997
25. Hernández J., Díaz O., et al. : Desarrollo y Evaluación de una vacuna experimental contra el Paramixovirus porcino. First International Symposium Upon Pig Paramyxovirus. Nov. México, 1994.
26. Herrera D., Hernández A. et al.: Uso de una bacterina contra *Actinobacillus pleuropneumoniae* en una granja engordadora de cerdo del centro del país. Acontecer Porcino, Vol X No. 57, Octubre-Noviembre . 82.México. 2002.

27. Hunneman W.: Los brotes de infección por *Actinobacillus pleuropneumoniae* dependen del manejo y de las condiciones de estrés. Pigs- Misset, Especial de Enfermedades Respiratorias. Solvay Animal Health, Septiembre, 6-7, 1995.
28. Iglesias G.: *Actinobacillus pleuropneumoniae*. Pig Progress, Vol. 16, No. 6, 24-26, Holanda, 2000.
29. Iglesias G., Lokensgard J., Trujano M.: Respiratory Disease Associated to Pseudorabies Virus Infection. Proceeding of 10th. IPVS Congress Río de Janeiro Brazil. 161, 1988.
30. Iglesias G., Rincón F. et. al.: Evaluación de una vacuna para la prevención de la enfermedad causada por el Paramyxovirus porcino. First International Symposium Upon Pig Paramyxovirus, Nov. México, 1994.
31. Iglesias G., Tapia J. Et al. : Trabajos de caracterización de aislamientos de campo del Paramyxovirus porcino. First International Symposium Upon Pig Paramyxovirus. Nov, México, 1994.
32. Méndez A. : Estructura y Perspectivas de la Cadena Porcícola. Acontecer Porcino. Vol. V. No. 26, Agosto-Septiembre , 4-7, México, 1997.
33. Montaraz C. J. Respuesta inmune humoral en cerdos infectados con *A. pleuropneumoniae*. Memorias del 1er. Curso internacional de Inmunología Veterinaria. Diciembre, 78-79, México. 1997.
34. Moreno L. J. Correa G. P. Linne T. : Characterization of The LPM strain of The Pig Paramyxovirus. First International Symposium Upon Pig Paramyxovirus. Nov, 8-9 , México, 1994.
35. Pérez, E. R. "Perspectivas de la porcicultura en México", en XV Symposium de Ganadería Tropical, México, 1993.

36. Ramírez M.H. : Caracterización del virus de la enfermedad del ojo azul y su efecto en órganos reproductivos del verraco. Acontecer Porcino. Vol. VI No. 29 Febrero- Marzo, 59-63. 1998.
37. Ramírez M.H, Nápoles R. C. et al.: Patogénesis de la cepa de Paramyxovirus porcino PAC-3 en el aparato reproductor del cerdo. Lesiones macro y microscópicas. First International Symposium Upon Pig Paramyxovirus. Nov. México, 1994.
38. Ramírez H. y Haro T. : Un caso de mortalidad en cerdos del área de engorda. Los Porcicultores y su entorno, Año 6 No. 31 Enero-Febrero, 48-52 México 2003.
39. Rodríguez B., Gutiérrez M. C, et al.: Inmunidad y Diagnóstico, PORCI.(Actinobacillus pleuropneumoniae y pleuroneumonía porcina) No. 37 , Enero, 61-74, España. 1997.
40. Rodríguez F. E. : Introducción y antecedentes. PORCI.(Actinobacillus pleuropneumoniae y pleuroneumonía porcina) No. 37 , Enero, 11-14, España. 1997.
41. Rodríguez F. E et al. : Prevención y control. PORCI.(Actinobacillus pleuropneumoniae y pleuroneumonía porcina) No. 37 , Enero, 75-92 España. 1997.
42. Ross R. F. : Mycoplasmal Diseases in: Diseases of swine, 8th ed. Edited by Straw, B.E., D'Allaire, S., Mengeling, W.L. and Taylor. D.J. 495-509. Iowa State University Press, USA 1999.
43. Sánchez B.J., Doperto D.J., et al. : Aislamiento del paramyxovirus porcino a partir de animales de engorda con cuadro respiratorio. Memorias AMVEC XXXVII Congreso Nacional. México. 2003.
44. Sánchez S. Gómez S. Navarro A. : Histología y mecanismos de defensa del aparato respiratorio del cerdo. PORCI. (Patología cardiorespiratoria) No. 19, 11-19 España. 1994.

45. Sánchez B., Doporto D. Et al. : Utilidad de la Inhibición de la Hemaglutinación en la Enfermedad del Ojo Azul. Memorias AMVEC XXXVII Congreso Nacional. 266-268. México, 2003.
46. Segales J. : European perspective of respiratory diseases. This special Respiratory Diseases of Pig Progress, junio, 4-6, Holanda, 2002.
47. Stephano A. H.: Blue Eye Disease. In: Diseases of Swine. 8th Edition. Edited by Straw,B.E., D'Allaire,S., Mengeling,W.L. and Taylor, D.J. 103-112. *Iowa State University Press*. Ames, Iowa. 1999.
48. Stephano, H. A. : Blue Eye Paramyxovirus Infection in Pigs. First International Symposium Upon Pig Paramyxovirus. Nov, 1-7 , México, 1994.
49. Stephano A. : Complejo respiratorio porcino : Control Estratégico en Granjas. Los Porcicultores y su Entorno. Año 5 ,No. 28, julio-agosto, 50-60, 2002.
50. Stephano, H. A. y Gay G. M. El Síndrome de Ojo Azul. Una nueva enfermedad en cerdos asociada a un paramyxovirus. Vet. Mex. No. 17, 120-122. México, 1983.
51. Straw B., Meuten D., and Traker B.: Physical Examination. In: Diseases of Swine. 8th ed. Edited by Straw,B.E., D'Allaire,S., Mengeling,W.L. and Taylor, D.J. 3-18. *Iowa State University Press*, USA 1999.
52. Sundqvist A., Díaz O. et al. : ELISA competitivo para el diagnóstico de Paramyxovirus LPM. First International Symposium Upon Pig Paramyxovirus. Nov, México, 1994.
53. Tasco C.R., Vazquez B. J. Alvarez N. y Rodriguez F.: Poder patógeno de *Actinobacillus Pleuropneumoniae*. PORCI.(Actinobacillus pleuropneumoniae y pleuroneumonía porcina) No. 37 , Enero,33-46 España. 1997.
54. Taylor, D.J.: *Actinobacillus pleuropneumoniae*. In: Diseases of Swine. 8th Edition. Edited by Straw,B.E., D'Allaire,S., Mengeling,W.L. and Taylor, D.J. 343-354. *Iowa State University Press*. Ames, Iowa. 1999.

55. Thacker, E., Halbur, P. and Thacker, B.: Mycoplasma and PRRSV interactions - their possible role in PRDC. Proceedings on the AASP 351-356. 1998.
56. Tielens M. : Las enfermedades respiratorias de los cerdos: Prevalencia y efectos económicos. Pigs- Misset, Especial de Enfermedades Respiratorias. Solvay Animal Health, Septiembre, 4-5. 1995.
57. Tielens M. : Prevención de las enfermedades respiratorias a través de un control ambiental óptimo. Pigs- Misset, Especial de Enfermedades Respiratorias. Solvay Animal Health, Septiembre, 28-29. 1995.
58. Tórtora P. J. : Patología de las neumonías en animales domésticos. Resúmenes del simposio de inmunología del aparato respiratorio. FESC-UNAM. 72-80, México 1994.
59. Torremorell M. Pijoan C.,: Airborne Transmission of PRRS virus and *Actinobacillus pleuropneumoniae* in Swine nurseries. Proc IPVS, 194, Bologna, 1996.
60. Trujillo O. y Sánchez B. : Rubulavirus Porcino a Través del Tiempo. Los Porcicultores y su entomg, Año 5 No. 30. Nov-Dic, 88-95, 2002.