



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**

---

**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN**

**EVALUACIÓN DEL EFECTO DE UNA BACTERINA  
COMERCIAL SUBUNITARIA PARA  
Actinobacillus pleuropneumoniae SOBRE PARÁMETROS  
PRODUCTIVOS EN UNA GRANJA PORCINA COMERCIAL**

**TRABAJO DE TESIS**

QUE PARA OBTENER TÍTULO DE :

**MÉDICA VETERINARIA ZOOTECNISTA**

**P R E S E N T A :**

**KARINA MANCERA MARTÍNEZ**

ASESOR :

MVZ. VÍCTOR QUINTERO RAMÍREZ



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis 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.

## **DEDICATORIAS**

A mis amados padres por sus innumerables esfuerzos y sacrificios para darme la oportunidad de estudiar y salir adelante, siendo ésta la mejor herencia que me pudieron dar. Los Amo Mucho.

A mi amado hermano por sus consejos y su ejemplo, pero sobre todo por ser mi Mejor Amigo. Te Amo Mucho.

A unos seres que al principio fueron el impulso que me llevó a decidir estudiar Medicina Veterinaria, y que tal vez nunca comprenderán lo Mucho que me apoyaron en mis estudios. A mis amados perritos Lash y Bobby por acompañarme en esas incontables noches de desvelo y estudio.

## AGRADECIMIENTOS

A Dios primeramente por permitirme estudiar esta maravillosa carrera que me llevó a admirarlo cada día más. Por extender su Misericordia hacia mi vida y hacer todas las cosas nuevas, por permitirme ser su hija y porque Siempre estuvo a mi lado en cada momento de mis estudios, dándome de su Sabiduría y poniendo en mi la energía necesaria para poder alcanzar la meta. Agradezco infinitamente su Fidelidad al cumplir sus promesas porque mientras que yo me ocupaba de sus asuntos Él se ocupaba de los míos. Gracias Dios mío porque no merezco nada de lo Mucho que me has dado, al abrir las ventanas de los Cielos y derramar Hermosas Bendiciones en mi vida. y Finalmente porque Tú y yo sabemos que sin Ti nada de esto podría haberse cumplido.

A mi amada familia (papi, mami y Coco) porque ustedes son la muestra más palpable de la presencia de Dios en mi vida, porque al ser los seres que más me aman Siempre se esforzaron por formarme y ayudarme a ser una persona de bien. No saben cuánto le agradezco a Dios por permitirme ser parte de esta familia. Les pido que por favor tomen la culminación de mis estudios y esta tesis como una pequeña muestra de mi Amor y profundo Agradecimiento hacia ustedes. Que Dios los siga Bendiciendo y les dé la Vida Eterna. Los Amo Muchísimo.

A mi familia en Cristo por su apoyo y oraciones en las situaciones difíciles; y por enseñarme a entender la voluntad de Dios. Gracias a mis amados Pastores Rubén y Martha por quererme como a una hija, a mis Copastores David y Rosita por sus enseñanzas y cariño. Y a los hermanos que me han apoyado con sus oraciones y consejos, Gracias H. Gloria, H. Juan, H. Sarita, H. Tere, H. Carmelita y H. Rosalía. Que Dios los Guarde y los Bendiga. Los Quiero Mucho.

Gracias a mi tío Antonio y a mi tía Conchita porque siempre confiaron en mí y me apoyaron con sus consejos. Los Quiero Mucho.

Gracias a mis amigos: Ethel, Edith, Lisbeth, Brenda, Sinai, Gabriela y George, por su apoyo incondicional, por creer en mí y por ser instrumentos de Dios en mi vida. Los Quiero.

Muchas Gracias a dos personitas Muy Especiales (Dennyra y Quique) porque desde que me conocieron no han hecho otra cosa que demostrarme lo Mucho que me quieren y lo importante que soy en sus vidas, no saben cuánto le Agradezco a Dios por permitirme conocerlos. Los Quiero Muchísimo.

Y por supuesto Muchas, pero Muchas Gracias a mi asesor, por ser antes que nada mi maestro, mi amigo y la persona que más ha influido en mi desarrollo como profesionista, al enseñarme el maravilloso mundo de la Patología y las enfermedades del cerdo. Gracias Victor, tú sabes que TQM y le agradezco a Dios por haberte conocido. Que Dios te siga Bendiciendo Siempre.

Por último agradezco a mis profesores porque todos y cada uno de ustedes me inspiró para estudiar cada una de sus asignaturas, y en especial a los que además fueron y son mis amigos. Gracias al: Dr. Crisóforo Mercado, MVZ César Gómez, M. en C. Jorge Muñoz, M. en C. Antonio Licea, Dr. Fernando Alba, Dra. Paty García R., MVZ Arturo Sandoval, MVZ Gilberto Ochoa, MVZ Mario Velasco y MVZ Javier Balderas. No puedo pagarles con nada sus consejos y todo lo que me enseñaron, pero puedo asegurarles que le Agradezco a Dios por sus vidas y los tengo presentes en mis oraciones. Que Dios los Bendiga, Los Quiero Mucho.



FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLAN  
 UNIDAD DE LA ADMINISTRACION ESCOLAR  
 DEPARTAMENTO DE EXAMENES PROFESIONALES

UNIVERSIDAD NACIONAL  
 AUTÓNOMA DE  
 MÉXICO

U. N. A. M.  
 FACULTAD DE ESTUDIOS  
 SUPERIORES - CUAUTITLAN  
 ASUNTO: VOTOS APROBATORIOS



DRA. SUEMI RODRIGUEZ ROMO  
 DIRECTOR DE LA FES CUAUTITLAN  
 PRESENTE

DEPARTAMENTO DE  
 EXAMENES PROFESIONALES

ATN: L. A. ARACELI HERRERA HERNANDEZ  
 Jefe del Departamento de Exámenes  
 Profesionales de la FES Cuautitlán

Con base en el art. 28 del Reglamento General de Exámenes, nos permitimos  
 comunicar a usted que revisamos la Tesis :

Evaluación del efecto de una bacterina comercial subunitaria  
para Actinobacillus pleuropneumoniae sobre parámetros  
productivos en una granja porcina comercial.

que presenta la pasante: Karina Mancera Martínez  
 con número de cuenta: 09920137-9 para obtener el título de :  
Médica Veterinaria Zootecnista

Considerando que dicho trabajo reúne los requisitos necesarios para ser discutido en  
 el EXAMEN PROFESIONAL correspondiente, otorgamos nuestro VOTO APROBATORIO.

ATENTAMENTE  
 "POR MI RAZA HABLARA EL ESPIRITU"

Cuautitlán Izcalli, Méx. a 06 de Noviembre de 2007.

PRESIDENTE MVZ. Gilberto Ochoa Uribe

VOCAL MVZ. Victor Quintero Ramirez

SECRETARIO Dra. Lucia Angélica García Camacho

PRIMER SUPLENTE MVZ. Elizabeth Quezada Fraide

SEGUNDO SUPLENTE MVZ. Jesús Arturo Sandoval Romero

## ÍNDICE:

<b>1.- RESUMEN</b>	<b>i</b>
<b>2.- INTRODUCCIÓN</b>	<b>1</b>
<b>3.- OBJETIVOS E HIPÓTESIS</b>	<b>25</b>
<b>4.- MATERIAL Y MÉTODOS</b>	<b>26</b>
<b>5.- RESULTADOS</b>	<b>28</b>
<b>6.- DISCUSIÓN</b>	<b>31</b>
<b>7.- CONCLUSIONES</b>	<b>35</b>
<b>8.- BIBLIOGRAFÍA</b>	<b>36</b>

## RESUMEN.

Este trabajo de tesis se desarrolló en una granja de ciclo completo en el Estado de México positiva por aislamiento bacteriano y serología a la presencia de *Actinobacillus pleuropneumoniae*. Se aplicaron dos dosis de una bacterina subunitaria comercial para inmunización contra el agente (Porcilis® APP Lab. Intervet) a un grupo experimental formado por 1921 cerdos en el grupo experimental, de  $\pm 70$  días de edad, con un peso promedio de 23 kg. ( $\pm 3$  kg.), una dosis a las 7 y otra a las 9 semanas de edad y se dejó un grupo control sin vacunación con 1932 animales, con la misma edad y peso. Al pasar los cerdos al área de engorda se distribuyeron alternadamente a una nave vacunada y a una sin vacunar. Ambos grupos recibieron el mismo tipo de alimento y medicación. Los resultados demuestran una mejora estadísticamente significativa a favor de los grupos vacunados en los parámetros de ganancia diaria de peso (+86.68 g), ganancia total de peso (+4.87 kg), y edad ajustada a 100 kg de peso (-4.68 días). También mejoraron porcentualmente los promedios de mortalidad en el grupo vacunado encontrándose que el grupo no vacunado tuvo 1.45 % más de mortalidad que el grupo vacunado. El análisis estadístico se efectuó con la Prueba “T” de Student. Se concluye que la bacterina subunitaria es una herramienta útil para el control de la infección por *Actinobacillus pleuropneumoniae* que es el agente causal de la Pleuroneumonía Contagiosa Porcina en granjas productoras de cerdos.



## **INTRODUCCIÓN.**

La Pleuroneumonía Contagiosa Porcina (PCP) es una de las enfermedades bacterianas más importantes que afectan al tracto respiratorio de los cerdos (1, 2 y 3).

Es producida por *Actinobacillus pleuropneumoniae* y se caracteriza por signos clínicos que varían de acuerdo a la edad del animal, estado inmune, condiciones ambientales y el grado de exposición al agente infeccioso. Puede afectar a cerdos de cualquier edad, pero enferman con más frecuencia a partir de las 8 semanas de vida coincidiendo con factores estresantes como el destete. El curso clínico de la enfermedad puede adoptar tres formas distintas: hiperaguda, aguda o crónica. La enfermedad está presente en todo el mundo. Su control se puede realizar mediante la utilización de vacunas y antibióticos y se han descrito diferentes métodos para su erradicación. Es una enfermedad de gran importancia económica debido a la mortalidad que ocasiona y al costo del tratamiento (2).

## **NOMBRE.**

La Pleuroneumonía Contagiosa Porcina fue observada por primera vez en 1931 por Shope denominando al agente etiológico como *Haemophilus parahaemolyticus*. Años más tarde él y otros investigadores lo denominaron *Haemophilus pleuropneumoniae* debido a que observaron que *Haemophilus parahaemolyticus* y *Haemophilus pleuropneumoniae* eran idénticos, en Argentina en 1964 (4). Posteriormente el agente causal fue transferido al género *Actinobacillus*, quedando definitivamente clasificado como *Actinobacillus pleuropneumoniae* (2).

## **ETIOLOGÍA.**

*Actinobacillus pleuropneumoniae* se presenta como pequeños bastones (cocobacilos) midiendo de 0.5-1.0 x 1.0-2.0 µm, Gram negativos, con cápsula e inmóviles. Estructuralmente, en la membrana externa, se incluye el lipopolisacárido (LPS) y diferentes tipos de proteínas de interés. La cápsula se relaciona con la patogenia y es

muy útil para su clasificación. En aislamientos recientes se ha descrito la presencia de fimbrias (5 y 6).

### **Cultivo.**

La mayoría de las cepas de *Actinobacillus pleuropneumoniae* se caracterizan por su dependencia del factor V, que es el factor de coagulación de la sangre, nicotinamida adenina dinucleótido (NAD) constituyendo el biotipo I, siendo hemolítico en menor grado el biotipo II (7).

*Actinobacillus pleuropneumoniae* crece bien a 37° C, preferentemente en presencia de CO<sub>2</sub> (5%), al menos en cultivos iniciales. En 24 horas o menos (en los subcultivos) produce colonias redondas, pequeñas (1 mm de diámetro o menos), lisas y brillantes u opacas y de aspecto céreo, de color gris blanquecino (2).

No se consideran microorganismos muy exigentes y crecen bien en distintos tipos de medios de cultivo (suplementados con NAD) aunque los medios ricos en glucosa, minerales y vitaminas, producen mejores crecimientos y estos son más rápidos (5).

Comúnmente se utiliza agar chocolate suplementado con β-NAD (0.025-0.07%). Otra alternativa puede ser agar sangre (5% de sangre), inoculando una estría nodriza de *Staphylococcus aureus* o *Staphylococcus intermedius*, que producen NAD y permiten satelitismo. Para su diferenciación con otras especies, es muy importante su capacidad hemolítica y el que produzca prueba de CAMP (+) con exosustancias (β- toxina) de *Staphylococcus aureus* (5).

### **Características metabólicas y diferenciación de especies.**

En la tabla 1 se resumen las pruebas bioquímicas y su relación con la diferenciación de especies más semejantes.

Tabla 1. Determinaciones principales y diferenciación metabólica entre *Actinobacillus pleuropneumoniae* y especies próximas.

DETERMINACIONES PRINCIPALES Y DIFERENCIACIÓN METABÓLICA ENTRE <i>A. pleuropneumoniae</i> Y ESPECIES PRÓXIMAS.								
Carácter/ actividad	<i>A. pleuropneumoniae</i>	<i>A. suis</i>	<i>A. indolicus</i>	<i>A. porcinus</i>	<i>A. minor</i>	Taxón <i>C</i>	<i>H. para-suis</i>	<i>P. multocida</i>
Acido de glucosa	+							
Acido de manitol	+	-			-		-	(+)
Acido de xilosa	+	+					-	V
Acido de ribosa	+						+	
Acido de lactosa	d	+			+		-	(-)
Ureasa	+	+			-		-	-
b-galactosidasa	+							
Fosfatasa alcalina	+							
Nitratos	+	+					+	
SH <sub>2</sub>	+							
Hemólisis	+	+	-	-	-	-	-	-
CAMP	+	-	-	-	-	-	-	-
V-dependencia	+	-	+	+	+	+	+	-
X-dependencia	-	-	-	-	-	-	-	-
Catalasa	-		+	-	-		+	
Producción de Indol	-		+	-	-		-	

(Rapp, *et al.*, 1985. 8)

### Serotipos.

*Actinobacillus pleuropneumoniae* se clasifica en serotipos en base a su antígeno capsular (K). Inicialmente, basado en su dependencia o no del NAD para crecer, se describieron 2 biotipos (I y II); el biotipo I consta de 12 serotipos (1 a 12) y de los serotipos 1 y 5 se derivaron dos subtipos (a y b) (9). Dentro del biotipo II, también se incluyeron serotipos 1 y 2. Sin embargo como consecuencia de que, pese al carácter dependiente de NAD, se comparten antígenos entre ambos biotipos, recientemente se ha unificado el sistema en un sólo biotipo con 15 serotipos. Ambos biotipos producen Pleuroneumonía Contagiosa Porcina clínicamente indiferenciable (10).

El antígeno O (somático) del LPS, inmunodominante, causa reacciones cruzadas que originan problemas en la tipificación, especialmente de manera muy evidente con los serotipos 1, 9 y 11; 3, 6 y 8; y 4 y 7. Un serotipo se identifica por sus antígenos K y O (11).

Las proteínas de la membrana externa (PME) también son antígenos importantes. Se incluyen lipoproteínas y otras proteínas que se expresan en presencia de maltosa o ausencia de hierro libre (condiciones limitantes). Finalmente algunas sustancias solubles que son secretadas durante el crecimiento microbiano poseen carácter antigénico, entre las que destacan las toxinas RTX (12).

En el proceso de tipificación de *Actinobacillus pleuropneumoniae* se utilizan diversos métodos serológicos en los que se emplean antisueros producidos en conejo o anticuerpos monoclonales. En cuanto al antígeno, mientras más simple y menos agresiva sea su preparación, se consigue mayor especificidad (un extracto obtenido en solución salina a temperatura ambiente proporciona los mejores resultados). Respecto del sistema, aunque se han utilizado muchos procedimientos, han prosperado la aglutinación rápida en placa, la coaglutinación y la hemoaglutinación indirecta. Otros sistemas presentan más inconvenientes como la falta de especificidad, reacciones cruzadas o problemas propios de ejecución de la técnica (2).

### **Resistencia en el ambiente y a los factores físico-químicos.**

*Actinobacillus pleuropneumoniae* es muy lábil en el medio ambiente y en el laboratorio no sobrevive más de 3 días en caldo a temperatura ambiente (independientemente de que tenga o no suplementación con NAD) o un poco más a 4°C. En suero a temperatura ambiente sobrevive hasta 12 días, multiplicándose en el caso de suplementar el medio con NAD o bajar la temperatura a 4°C, aunque a esta temperatura y suplementado, la supervivencia sólo llega a los 18 días. El uso de temperaturas de -80°C en un medio con leche descremada y glicerina, al igual que la liofilización resultan adecuados para su conservación prolongada. Sin embargo, es muy diferente lo que puede suceder en condiciones de campo en las que el microorganismo se encuentra protegido por las secreciones nasales y fluidos orgánicos que le permiten una mayor supervivencia (10).

*Actinobacillus pleuropneumoniae* es destruido por la mayoría de los desinfectantes, especialmente los derivados de cloro, aunque este último es inhibido por la materia orgánica. Tampoco es resistente al calor (10).

### **Factores de virulencia.**

La patogenicidad de *Actinobacillus pleuropneumoniae* es multifactorial, y está integrada por distintos factores estructurales y de secreción; entre los primeros se incluyen componentes de la membrana externa (PME), los LPS, la cápsula, las fimbrias, mientras que entre los segundos se incluyen las toxinas (10).

El LPS posee propiedades semejantes a las de otros Gram negativos, asociadas a su carácter de endotoxina. Incluso puede representar una alternativa en la captación del hierro, a partir de la hemoglobina. El LPS es importante en la respuesta inflamatoria por su capacidad inductora de citocinas (TNF- $\alpha$ , IL-1, IL-6 y IL-8) que desempeñan una importante función en la patogenia de la enfermedad respiratoria. En la pleuroneumonía porcina se han descrito niveles altos de IL-6, IL-1 y TNF- $\alpha$  en el suero de los animales enfermos y también en células de lavado pulmonar 2-4 horas post-infección. El TNF- $\alpha$  aparece tanto en procesos agudos como en crónicos (10).

El grado de desarrollo de la cápsula varía según los serotipos encontrándose que mientras que en los serotipos 1, 3 y 5 está bien definida, en los 2 y 7 es pequeña (9).

Las fimbrias son las estructuras a través de las cuales la bacteria se adhiere al epitelio de las vías respiratorias y pulmón, por lo que se piensa que pueden desempeñar un papel activo en la colonización (10).

Algunas PME inducen la producción de anticuerpos que actúan como opsoninas para favorecer la fagocitosis por neutrófilos, y otras PME (como los receptores para transferrina) también inducen anticuerpos neutralizantes que son protectores contra la infección (10).

*Actinobacillus pleuropneumoniae* produce hasta cuatro toxinas RTX distintas, denominadas Apx (ApxI a ApxIV). Las Apx forman poros en las membranas celulares, lo que conduce a la lisis de sus células blanco. ApxI, ApxII y ApxIII son citotóxicas

para macrófagos alveolares y neutrófilos y también son fuertemente hemolíticas. La presencia de una y/u otra, depende de la cepa y el serotipo, de tal modo que algunos serotipos son capaces de producir diferentes combinaciones de dos de ellas, mientras que otros producen solamente ApxI ó ApxII (13).

En la tabla 2 se resume la capacidad tóxica de los distintos serotipos.

Tabla 2. Resumen de la producción de toxinas por los serotipos de *Actinobacillus pleuropneumoniae*.

Resumen de la producción de toxinas por los serotipos de <i>A. pleuropneumoniae</i> .			
Serotipos	ApxI	ApxII	ApxIII
1, 5 a, 5b, 9 y 11	+	+	
2, 3*, 4, 6 y 8		+	+
7 y 12		+	
10	+		

En el serotipo 3, faltan los genes de transporte, para la secreción de la ApxII.

(Sánchez-V J, 2003. 10)

Las toxinas ApxI, ApxII y ApxIII producen prueba de CAMP (+) y todas son factores de virulencia muy importantes, a las que se atribuye directamente el daño tisular y se implican, junto con otras causas, en el desarrollo de las lesiones típicas. Aunque las toxinas son capaces de destruir macrófagos y neutrófilos, existe cierta capacidad de supervivencia celular (especialmente en los neutrófilos), de los que se evadirían por un mecanismo de "escape" en el que ellas mismas participarían de forma directa. La ApxI tiene gran relación con la virulencia, de manera que los serotipos que la producen son responsables de los brotes más graves (10).

Se ha reportado un cuarto tipo de toxina RTX, el ApxIV, del que se han descrito dos variantes presentes, en los serotipos 1 y 3, que ya han sido clonados, secuenciados y expresados en *Escherichia coli*. La ApxIV recombinante es débilmente hemolítica y produce CAMP (+) con *Staphylococcus aureus*. Sólo se produce *in vivo* y presenta un peso molecular de 202 kDa, con 24 repeticiones ricas en glicina. Se detecta en todos los serotipos y parece ser específica de especie (14).

En la patogenia de la pleuroneumonía, el daño tisular es consecuencia directa de microlesiones en las membranas celulares producidas por las toxinas Apx, las cuales producen daño pulmonar y contribuyen a la invasión, por sus propiedades antifagocíticas. Las toxinas también afectan a los linfocitos T, lo que altera la respuesta inmune y favorece la cronicidad del proceso. Como todas las cepas producen por lo menos una Apx, la enfermedad es indiferenciable desde el punto de vista clínico, lo que produce una mayor o menor gravedad en función del serotipo implicado (10).

*Actinobacillus pleuropneumoniae* produce una potente ureasa cuya participación en la patogenia parece tener lugar a largo plazo mediante la disminución de la respuesta inmune local, lo que permitiría la persistencia de la bacteria. También genera una Superoxidodismutasa-Cu/Zn que facilita la supervivencia bacteriana local dismutando el superóxido generado por las células inflamatorias. Finalmente también se han descrito proteasas que degradan la hemoglobina y la IgA, *in vitro*; por ejemplo, una de estas sustancias ha sido caracterizada como una metaloproteasa de Zn aunque su papel en la patogenia de la enfermedad todavía no se conoce (10).

## **EPIDEMIOLOGÍA.**

La pleuroneumonía contagiosa porcina es una enfermedad ampliamente distribuida en los países productores de cerdos de todo el mundo (2).

El periodo de incubación es muy variable (12 horas a 3 días) dependiendo de factores como la virulencia de la cepa, la dosis infectante, condiciones ambientales en que viven los cerdos, entre otros. Se han descrito casos experimentales con rangos de incubación desde unas horas post-inoculación hasta varios días. La presencia en la explotación de otras enfermedades como la enfermedad de Aujeszky, PRRS y *Mycoplasma spp* exacerban la presentación de *Actinobacillus pleuropneumoniae* (15).

La principal ruta de diseminación de la enfermedad es por vía aérea a través de aerosoles aunque sólo en distancias cortas, así como por contacto directo entre animales enfermos y susceptibles. No se ha demostrado la transmisión de la infección por vectores (pájaros, roedores) ni fomites (personas). Tampoco se ha podido demostrar por inseminación artificial o por transferencia de embriones (2).

La introducción de la enfermedad en una explotación se debe generalmente por la entrada de animales enfermos. Las condiciones concurrentes de cambios climáticos, ventilación deficiente, entre otros factores favorecen su diseminación (2).

## **INMUNIDAD.**

Uno de los elementos claves que determinan la evolución de la enfermedad en las piaras afectadas, lo constituye la inmunidad contra el agente causal. Una vez que un animal se recupera de la infección, adquiere protección contra el desafío por todos los serotipos de *Actinobacillus pleuropneumoniae*. La presencia de inmunidad calostrual es un factor importante que interfiere en la inmunidad activa de los lechones. La respuesta inmune primaria sólo se produce en lechones que no poseen anticuerpos calostrales al momento de ser desafiados (16).

La duración de la inmunidad pasiva varía entre 2 a 8 semanas dependiendo del nivel de anticuerpos adquiridos. No existe correlación entre los niveles de inmunoglobulinas dirigidos contra antígenos capsulares serotipo específicos y la protección. Esto contrasta con la inmunidad protectora asociada con el nivel de anticuerpos específicos contra las toxinas Apx (16).

Cada uno de los componentes antigénicos de la bacteria han demostrado ser inmunogénicos, sin embargo, cada uno de ellos por separado induce una protección parcial contra los signos clínicos y las lesiones producidas por *Actinobacillus pleuropneumoniae* (16).

La inmunidad protectora contra la infección por *Actinobacillus pleuropneumoniae* está directamente relacionada con los niveles de anticuerpos específicos contra las toxinas ApxI, ApxII, ApxIII y ApxIV. La colonización de las amígdalas y de la mucosa nasal puede ocurrir en presencia de anticuerpos calostrales. El desarrollo de anticuerpos neutralizantes contra las toxinas Apx requiere que la infección se haya ubicado a nivel pulmonar ya que la colonización a nivel nasal o de amígdalas no induce un nivel suficiente de anticuerpos neutralizantes, por lo tanto, cerdos portadores del microorganismo a nivel de amígdalas o cavidad nasal sin involucrar los pulmones carecen de inmunoglobulinas específicas contra las toxinas Apx de *Actinobacillus*



*pleuropneumoniae*, esto explica el porque dichos animales son susceptibles de sufrir la enfermedad a pesar de albergar el agente a nivel del tracto respiratorio superior (16).

### **TRANSMISIÓN Y PATOGENIA.**

La infección se transmite por aerosol o por contacto directo entre animal enfermo y animal sano. En estudios de infección experimental se ha podido demostrar que *Actinobacillus pleuropneumoniae* coloniza las tonsilas y el epitelio alveolar (17). En el pulmón el microorganismo es fagocitado rápidamente por los macrófagos alveolares, pero debido a la producción de las toxinas ApxI, ApxII y ApxIII que tienen un marcado efecto tóxico para los macrófagos alveolares, la fagocitosis no actúa adecuadamente (18). Las toxinas también afectan a las células endoteliales de los vasos capilares alveolares y sus efectos son los causantes de las lesiones de trombosis e infarto típicas de esta enfermedad. En infecciones experimentales se han observado daños pulmonares que comienzan a ser evidentes a las tres horas post-infección y continúan de forma progresiva (19 y 20).

### **FORMAS CLÍNICAS Y LESIONES.**

Los signos clínicos de la enfermedad varían con la edad del animal, su estado inmunitario, las condiciones ambientales y el grado de exposición al agente infeccioso. El curso clínico de la enfermedad puede adoptar tres formas distintas: la hiperaguda, la aguda y la crónica. Los cuadros hiperagudo y agudo son típicos de explotaciones libres del agente mientras que el cuadro crónico está más relacionado con áreas donde el padecimiento es endémico (10, 21 y 22).

Por lo general afecta a cerdos entre las 8-18 semanas de edad (10).

Se considera que la incidencia de la pleuroneumonía contagiosa porcina está ligada a la variación estacional (10).

## **CUADRO HIPERAGUDO.**

Este cuadro se caracteriza por la siguiente secuencia de acontecimientos:

- Aparición repentina de algunos animales muy enfermos con fiebre (41.5-42°C), anorexia y apatía (siendo estos animales los últimos en levantarse cuando se entra en el corral).
- Período breve de vómitos, diarrea leve, tos y epistaxis. Rápido aumento del pulso, insuficiencia cardíaca y respiratoria.
- Cianosis en piel de la nariz, orejas, patas y al final de todo el cuerpo.
- Fase terminal:
  - Posición de perro sentado. Disnea grave con respiración oral (abdominal) y disminución brusca de la temperatura rectal.
  - Secreción abundante, espumosa y teñida de sangre a través de los ollares y la boca, antes de la muerte.
  - Muerte dentro de las 24 - 36 horas del desarrollo de los síntomas clínicos. En animales jóvenes la muerte puede presentarse tan rápidamente que no lleguen a observarse los síntomas anteriormente mencionados.
  - En reproductoras se han descrito abortos de forma ocasional.
  - Las tasas de morbilidad y mortalidad oscilan alrededor del 30 - 35%, dependiendo de la experiencia inmunológica de la explotación.
- Ocasionalmente:
  - Muerte súbita sin síntomas clínicos.
  - En neonatos la enfermedad ocurre como una septicemia aguda (2).

## **CUADRO AGUDO.**

- En el mismo o en diferentes corrales dentro de la nave, aparecen muchos cerdos afectados con fiebre (40.5-41°C). Los animales enfermos rechazan la comida, no quieren beber y están deprimidos (23).
- Se observan síntomas respiratorios graves: tos, disnea y ocasionalmente respiración por la boca. Se presenta insuficiencia cardíaca y circulatoria con congestión de extremidades.

- Evidente pérdida de condición corporal después de 24 horas de iniciarse la enfermedad.
- La evolución de la enfermedad difiere de unos animales a otros, dependiendo de la extensión de las lesiones pulmonares y del tiempo de iniciación del tratamiento terapéutico.
- La muerte se debe a una combinación de una falla cardíaca y de toxinas producidas por el organismo.
- Es posible observar cualquier tipo de evolución: desde la muerte de animales en pocos días hasta la evolución a la forma crónica.
- La morbilidad es muy alta (10 - 50%) y la mortalidad oscila entre el 3 - 30% en animales de engorda y superior al 40% en cerdos más jóvenes. Las tasas de morbilidad y mortalidad dependen de la virulencia de la cepa y de las condiciones ambientales en particular (2).

### **CUADRO CRÓNICO.**

- Aparece después del cuadro agudo. No existe fiebre y se observa tos variable e intermitente.
- Apetito reducido, intolerancia al ejercicio (estos animales son los últimos en levantarse cuando se entra en el corral). Presentan neumonía caracterizada por respiración abdominal debido a una pleuritis muy dolorosa.
- Los síntomas clínicos pueden exacerbarse por otras infecciones respiratorias (bacterias, virus, micoplasmas) (24).
- Los cerdos sobrevivientes presentan un marcado retraso de crecimiento.
- Los cerdos afectados pueden transportar el microorganismo durante largos períodos de tiempo y por lo tanto representan un riesgo potencial para los cerdos más jóvenes (2).
- Expresiones clínicas esporádicas:
  - El serotipo 3 de *Actinobacillus pleuropneumoniae* puede causar artritis, endocarditis y abscesos en diferentes localizaciones en animales individuales (10).
  - Últimamente se ha relacionado la enfermedad del oído medio con infecciones de *Actinobacillus pleuropneumoniae* (25).

## **LESIONES.**

### **Lesiones macroscópicas.**

Se localizan principalmente en el aparato respiratorio y varían de acuerdo al cuadro de la enfermedad (2).

**Cuadro hiperagudo:** la tráquea y los bronquios están llenos de exudado mucoso, espumoso y teñido con sangre. Las áreas con neumonía fibrinohemorrágica severa presentan exudado fibrinoso y un color rojo oscuro. También podemos observar pleuritis serofibrinosa (2).

**Cuadro agudo:** los pulmones presentan un cuadro de neumonía fibrinohemorrágica severa, que abarca parte de lóbulos caudales y los lóbulos craneales, encontrándose también en los primeros áreas de infarto rojo de tamaño variable. La inflamación de la pleura es muy aparente y la cavidad torácica contiene líquido sanguinolento. A medida que las lesiones avanzan, la pleuritis fibrinosa se vuelve fibrosa y puede adherirse tan fuerte a la pleura parietal que el parénquima pulmonar puede permanecer fijado a ésta cuando se extraen los pulmones en el examen post-mortem (2).

**Cuadro crónico:** las lesiones se retraen y disminuyen de tamaño a medida que la resolución progresa, hasta que permanecen nódulos de diferentes tamaños (abscesos firmes bien delimitados), la mayoría de ellos localizados en el lóbulo caudal. Estos nódulos pueden asociarse con áreas de pleuritis fibrosa adherente. Una elevada incidencia de pleuritis crónica al sacrificio es muy sugerente de la presencia de Pleuroneumonía Contagiosa Porcina (2).

### **Lesiones microscópicas.**

En las áreas pulmonares afectadas de la forma aguda, se observa una intensa congestión, hemorragia y edema alveolar. En estos tejidos los septos interlobulillares aparecen engrosados por el edema intersticial, con los vasos linfáticos dilatados, y presencia de células inflamatorias y eritrocitos entre las redes de fibrina (26, 27 y 28).

Los alvéolos contienen células inflamatorias, células descamadas y abundante fibrina. Las zonas que corresponden a infartos presentan necrosis coagulativa asociada con vasculitis y trombosis. Alrededor de los focos de necrosis destaca una franja celular basófila formada por acúmulos de leucocitos degenerados de aspecto fusiforme, identificados como macrófagos y neutrófilos, que llenan la luz alveolar (2).

Las lesiones en vías aéreas se manifiestan en forma de exudado mucofibrinoso compuestos por células epiteliales, células inflamatorias y fibrina. La pleuritis es serofibrinosa (10).

Si el proceso evoluciona hacia la cronicidad tiene lugar la proliferación de tejido de granulación alrededor de las zonas de necrosis, que posteriormente son limitadas por una cápsula de tejido conectivo. Estas lesiones contienen un elevado número de microorganismos, lo que determina un estado de animales portadores crónicos, pudiendo tener lugar una exacerbación de los síntomas y la aparición de complicaciones debidas a la intervención de otros microorganismos oportunistas (2).

Una de las complicaciones más frecuentes de la pleuroneumonía contagiosa porcina es la pericarditis serofibrinosa con posterior desarrollo de adherencias y engrosamiento fibroso. Aunque en la mayoría de los casos las lesiones están limitadas a la cavidad torácica, a veces se puede observar también peritonitis fibrinosa, meningoencefalitis purulenta, endocarditis ulcerosa, artritis y osteomielitis (2).

## **DIAGNÓSTICO CLÍNICO-PATOLÓGICO.**

Se basa en la historia y datos productivos del hato, los signos clínicos, exámenes post-mortem que incluyen resultados de necropsias, controles de rastro (2).

En animales enfermos con fase aguda, la presencia de neumonía exudativa aguda con áreas de necrosis es un signo claro de pleuroneumonía porcina (2).

Las lesiones del pulmón macro y microscópicas de neumonía fibrinonecrótica y pleuritis fibrinosa son características (2).

El examen serológico posee escaso valor en la identificación del serotipo causal debido a las reacciones cruzadas entre los serotipos ya que no puede excluirse que en la misma explotación (e incluso en el mismo animal) estén presentes más de un serotipo; sin embargo, es útil para asegurar la presencia de *Actinobacillus pleuropneumoniae* junto con el aislamiento bacteriano (29).

## **DIAGNÓSTICO DE LABORATORIO.**

### **AISLAMIENTO BACTERIOLÓGICO.**

Para el aislamiento bacteriano se utilizan muestras que incluyen los pulmones enteros y las tonsilas. En el laboratorio se realiza la toma de diversas zonas del pulmón, de preferencia de zonas con lesiones bien delimitadas, incluso encapsuladas, mejor de la periferia que del centro. También pueden tomarse muestras mediante impregnación de hisopos del parénquima pulmonar al que se accede durante la necropsia después de cauterizar con una espátula al rojo la superficie del órgano. Es conveniente el uso de medios de transporte, como el medio de Stuart, que prolongan la supervivencia del microorganismo al laboratorio. En animales vivos se ha descrito una técnica de toma de muestra por biopsia de tonsila (30).

El agar sangre es un medio adecuado que se utiliza con una estría nodriza de especies productoras de factor V, con las que *Actinobacillus pleuropneumoniae* satelitizan; además posee la ventaja de que permite observar la presencia de hemólisis (30).

### **TIPIFICACIÓN.**

La serotipificación es el método comúnmente utilizado y se basa en la determinación del tipo de antígenos capsulares presentes en cada aislamiento, que permite su agrupación en serotipos, utilizando para ello antisueros específicos policlonales o monoclonales. Los inconvenientes del serotipado tradicional incluyen la presencia de reacciones cruzadas y de cepas no tipificables (31 y 32).

Se define principalmente a través de reacciones bioquímicas, siendo muy útiles la presencia de potentes actividades ureasa,  $\beta$ -galactosidasa y fosfatasa alcalina, así como su capacidad hemolítica, que se puede observar sobre agar sangre de bovino u ovino por la acción sinérgica de la b-toxina de una cepa de *Staphylococcus aureus* (efecto CAMP) (33 y 34).

Se han descrito un sinnúmero de reacciones cruzadas, que dificultan una buena conclusión del serotipo, aunque son especialmente importantes las debidas al carácter inmunodominante del LPS y que hacen reaccionar a los serotipos 1, 9 y 11, el 4 con el 7 y, finalmente, el 3, 6 y 8; otras reacciones se deben a la contaminación del reactivo diagnóstico con antígenos de origen citoplasmático, debido a una manipulación o procesado inadecuados. Por lo general mientras más intenso sea el tratamiento bacteriano, mayor es la inespecificidad de los antígenos recogidos (que son los más superficiales y se desprenden con tratamientos ligeros) (10).

**Fijación del complemento:** al principio fue creada o utilizada como un método de detección de especie transformándose después en una prueba de detección específica del serotipo. Los antígenos se preparan por sonicación de una suspensión de bacterias, tomando el sobrenadante. Se requiere la presencia de complemento, que es suero fetal bovino y el suero problema. La fijación del complemento es más específica que la hemaglutinación indirecta, porque es capaz de distinguir entre *Actinobacillus pleuropneumoniae* y *Haemophilus parasuis* pero su validez para el serotipado es cuestionada ya que la frecuencia de falsos negativos es alta. La realización de esta prueba es un proceso laborioso y complejo, que requiere un elevado grado de estandarización para su éxito y con inconvenientes técnicos que lo complican (35 y 36).

**ELISA:** su uso se propuso inicialmente como alternativa a la fijación del complemento. Los intentos posteriores de optimizarlo se han centrado en la purificación de un antígeno específico de serotipo, lo que no se ha conseguido. Primero se adaptaron los protocolos con el serotipo 5, que no presentó dificultades (tanto los polisacáridos capsulares, como el LPS y las proteínas de la membrana externa resultaron ser antígenos específicos de ese serotipo) pero cuando se abordó el serotipo 1, los resultados no fueron tan alentadores, pues los antisueros frente a este serotipo reaccionaron de manera cruzada con los de los serotipos 9 y 11 (mediante la producción de anticuerpos

monoclonales se ha señalado la presencia de epítomos comunes en el LPS); también se han demostrado repetidamente las reacciones cruzadas entre los serotipos 4, 7 y *A. lignieresii* (14, 36 y 37).

Otra opción alternativa es un sistema de competición para la detección del anticuerpo que se ha empleado con éxito para la detección del serotipo 8 y del 2, aunque el problema con estos métodos de ELISA es que no detectan todas las cepas (10).

**DETERMINACIÓN DE TOXINAS:** recientemente se han descrito métodos dirigidos a las proteínas Apx; el procedimiento más conocido utiliza la proteína recombinante ApxII, pero tiene el inconveniente de que esta toxina no está presente en las cepas de los serotipos 3 y 10. Una alternativa posible es la detección simultánea y múltiple de las tres toxinas Apx, en cuyo caso sí se pueden detectar cepas de cualquier serotipo pero no discriminar entre ellos, además de que investigaciones recientes han demostrado la presencia de análogos de las toxinas Apx en diversas especies bacterianas de interés veterinario, lo que se traduce en reacciones cruzadas con ellas, inhabilitándolas como antígeno diagnóstico (1).

**Aglutinación y coaglutinación:** son métodos simples, rápidos o lentos (aglutinación), para la identificación y serotipado de cepas de *Actinobacillus pleuropneumoniae*. Existen tres variantes útiles de la aglutinación: la reacción lenta en tubo, la aglutinación en tubo con 2-mercaptoetanol (2-ME), y la rápida en porta. Con el antisuero se practican diluciones seriadas, que se mezclan con el antígeno a partes iguales y el resultado de la aglutinación se determina por inspección visual (10).

**Aglutinación rápida:** a diferencia de otros sistemas evita muchas reacciones cruzadas, aunque posee el inconveniente de que no permite la clasificación de serotipos rugosos, que son autoaglutinantes, especialmente el 3 y 6 y, en ocasiones, 1 y 5, inconveniente que se salva mediante la coaglutinación que tampoco es completamente válido, porque no diferencia el serotipo 3 de los serotipos 6 y 8 (10).

**Coaglutinación:** pese a no tener la misma sensibilidad que la hemaglutinación indirecta, es en la actualidad, el método rápido de elección para serotipar cepas, aunque para una clasificación precisa y definitiva aún se recurre a la



hemaglutinación. Las ventajas de ésta incluyen la detección de animales infectados simultáneamente con varios serotipos y la posibilidad de trabajar con muestras en mal estado; es bastante específica y más sensible que el aislamiento, pero sólo detecta un pequeño porcentaje de animales infectados de forma crónica (10).

**Hemaglutinación indirecta:** también se utiliza para la detección de anticuerpos en el suero y representa la técnica preferida por la mayoría, por su sensibilidad y especificidad, aunque no discrimina de *Haemophilus parasuis*. El método consiste en sensibilizar glóbulos rojos de oveja con un extracto salino de *Actinobacillus pleuropneumoniae* (serotipo) tapizando después placas de microtitulación a las que se añaden diluciones seriadas del suero anti correspondiente (10).

**DETECCIÓN DIRECTA:** los métodos convencionales de aislamiento e identificación necesitan, al menos, de 3-4 días, por lo que los procedimientos que identifican el agente directamente en muestras clínicas son de inestimable ayuda, al acortar el tiempo necesario para aplicar las medidas de control más adecuadas. Se incluyen la coagulación, técnicas inmunohistoquímica o la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) (10, 38, 39 y 40).

**Inmunohistoquímica:** Se han descrito técnicas inmunohistoquímica basadas en la utilización de antisueros específicos de serotipo, que se revelan con sueros secundarios marcados con peroxidasa, pudiendo amplificarse la reacción mediante un tercer suero antiperoxidasa marcado con peroxidasa. También pueden emplearse sueros primarios marcados con biotina, en cuyo caso se revela la reacción con los complejos avidina-peroxidasa o estreptavidina-biotina-peroxidasa. Son técnicas rápidas, fáciles de ejecutar y que permiten el empleo de muestras fijadas antiguas (38, 39 y 40).

**PCR:** es un método eficaz para la detección y el tipado de *Actinobacillus pleuropneumoniae*, y se plantea como una alternativa a los métodos inmunológicos. Se utilizó por primera vez en 1991 con *primers* inespecíficos (41).

Finalmente, en base a la secuencia del gen *aroA*, también se ha desarrollado un sistema PCR-RFLP que permite la separación de los doce serotipos del biotipo I en tres grupos, aunque se presentan reacciones cruzadas con *A. equuli* (10).

**DETECCIÓN INDIRECTA:** se han utilizado diversos procedimientos para la identificación de anticuerpos en animales infectados, como la aglutinación en tubo con 2-ME, la hemoaglutinación indirecta, el immunoblotting, el radioinmunoensayo, la fijación del complemento, el ELISA y la neutralización de la hemolisina Apx1 (5).

### **PREVENCIÓN Y CONTROL.**

En función del tipo de explotación ya sea libre o portadora del microorganismo, las medidas de prevención son diferentes (2).

### **EXPLOTACIÓN LIBRE:**

El objetivo principal es continuar manteniendo la explotación en esa situación. Para ello se establecen estrictas medidas de bioseguridad con la finalidad de impedir la entrada del agente a la explotación; su principal función es evitar la entrada de cerdos portadores (2).

### **EXPLOTACIÓN INFECTADA.**

Cuando la infección se ha establecido en la granja, es difícil de erradicar el agente infeccioso. La práctica estricta del sistema todo dentro - todo fuera por lotes, en combinación con: a) tratamientos estratégicos; b) control de factores ambientales; c) control de la densidad de animales y d) uso de vacunas, constituyen métodos muy efectivos para controlar la expresión clínica de la enfermedad (2 y 42).

Se pueden establecer medidas de control a través de los siguientes manejos:

- **Control de factores ambientales:**
  - Evitar cambios bruscos de temperatura y la presencia de humedad (2).
  - Reducir el número de microorganismos en el aire nebulizando desinfectantes en el aire (42).

- Mantener una buena ventilación y flujo de aire caliente con la finalidad de conseguir un ambiente en el que los cerdos estén calientes, secos y sin corrientes de aire, considerando una temperatura en sala de destete de entre 30° C y 24° C, según la semana de estancia (2).
- **Manejo de los animales:**
  - Suministrar abundante agua.
  - No mezclar animales de diferentes procedencias ni edades en las engordas, siendo muy importante evitar mezclas de animales identificados como portadores y no portadores.
  - Utilizar el sistema todo dentro - todo fuera de forma estricta.
  - Adaptar las explotaciones a manejos en bandas a 3 semanas en función de la importancia económica de la enfermedad.
  - Realizar medicaciones estratégicas (pulsaciones) con antibióticos antes y después de la época normal de expresión clínica. Considerarlas como rutina dentro de los primeros 8 días después de introducir a los animales en el engorda.
  - Considerar la vacunación de reproductoras y engorda durante una primera fase de dos años cuando una explotación se infecta por primera vez (2 y 42).

### **MEDIDAS A TOMAR.**

En granjas con enfermedad crónica que compren animales libres de la enfermedad hay que considerar la posibilidad de vacunar a las hembras primerizas, recién llegadas, durante la cuarentena (2).

### **PREVENCIÓN CON VACUNAS.**

El control de la enfermedad mediante bacterinas elaboradas a base de células completas ha sido tradicionalmente insatisfactorio induciendo una pobre inmunidad que sólo es serotipo-específica (43).

Para que una vacuna sea capaz de inducir inmunidad protectora es necesario que sea capaz de estimular la producción de anticuerpos dirigidos contra las toxinas Apx. Sin embargo dichas inmunoglobulinas no previenen la colonización por parte de Actinobacillus pleuropneumoniae. Ninguna vacuna desarrollada hasta el presente es capaz de prevenir que los cerdos alberguen la bacteria a nivel de las amígdalas y se conviertan en portadores sanos de la infección (43).

Una vacuna capaz de prevenir la adhesión del microorganismo a las células epiteliales del tracto respiratorio superior podría ser efectiva en prevenir la aparición de cerdos portadores sanos. Bacterias cultivadas bajo condiciones de restricción de la disponibilidad de NAD (0.001 % NAD), poseen una incrementada capacidad de adherencia a las células alveolares. Bacterinas elaboradas bajo tales condiciones demostraron inducir una protección parcial pero superior a aquellas elaboradas con medio de cultivos enriquecidos con NAD (44).

La vacunación de las madres ha demostrado poseer un efecto positivo en la estabilización de la inmunidad del hato y en reducir la incidencia del problema en cerdos destetados (43). El uso de vacunación simultánea contra Mycoplasma hyopneumoniae y Actinobacillus pleuropneumoniae ha demostrado ser efectivo para garantizar un buen nivel de inmunidad calostrual contra ambas enfermedades (44).

Existen dos grupos principales de vacunas:

- **Vacunas inactivadas (bacterinas):** son serotipo específicas (45), con posible inmunidad cruzada según el serotipo (46). El tipo de adyuvante utilizado puede afectar la eficacia ya que se pueden producir lesiones granulomatosas indeseables en el punto de aplicación (47). Resuelven el problema de la mortalidad y disminuyen la presencia de lesiones, pero no evitan la condición de portador crónico (10).
- **Vacunas subunitarias:** son combinaciones variables de subunidades inmunogénicas de inmunidad protectora, tales como las toxinas Apx (48) y algunas proteínas de la membrana externa (49). Las vacunas de este tipo suelen proteger contra todos los serotipos. En la actualidad, el uso de este tipo de vacunas está dando buenos resultados aunque tampoco resuelven a plena

satisfacción el problema de los portadores crónicos. En cualquier caso, dependiendo del tipo de vacunas, se producen en mayor o menor medida reacciones después de la vacunación, en forma de vómitos, espasmos y leves diarreas. Se recomienda ayuno de 24 horas antes de la vacunación y uso de antipirético durante tres días (un día antes hasta un día después de la vacunación) (2).

En una prueba de ELISA ambas vacunas resultaron en un aumento significativo en la presencia de anticuerpos para el serotipo 1, pero no para el serotipo 15. Los cerdos vacunados con Porcilis APP (Intervet) mostraron una respuesta significativa en las ApxI, ApxII y de membrana externa de 42 kDa. En el ELISA ApxII, todos los cerdos probados (con Porcilis y con los controles) fueron positivos sobre la entrada de la prueba. Ninguna vacuna generó anticuerpos que reconocieran la ApxIII producida por serovar 15 (50).

Sólo la toxina ApxIV es específica de App. Ésta toxina es producida *in vivo* durante la infección pero no *in Vitro*. Sin embargo, una toxina ApxIV recombinante se produjo *in vitro*. Las bacterinas no contienen la toxina ApxIV y no induce anticuerpos contra ApxIV (51).

Normalmente la vacunación se realiza a las 6 - 8 semanas de edad, sin embargo, en explotaciones con elevada incidencia es recomendable vacunar a las cerdas en gestación para obtener una mejor protección inmunitaria (52).

Existen explotaciones portadoras de la enfermedad con elevada expresión clínica en las que se ha controlado el impacto económico realizando vacunación de animales reproductores y de animales con 6 - 8 semanas de vida, intenso control de los factores ambientales, medicaciones estratégicas con antibióticos y práctica estricta del sistema todo dentro - todo fuera (53).

En los casos extremos de expresión clínica, es muy recomendable realizar vacunación en cerdas reproductoras y segregación de lechones al destete:

- Durante los primeros 6 meses de vacunación a cerdas reproductoras, la segregación de lechones debe realizarse a los 12 - 14 días de vida para obtener animales sanos.
- Después de los 6 meses y de haber realizado dos medicaciones estratégicas a todas las cerdas reproductoras, la segregación de lechones se puede realizar a los 21 días de vida (54).

## **TRATAMIENTO.**

### **Observaciones preliminares:**

- Los cerdos afectados dejan de beber y de comer. Debido al curso agudo de la enfermedad es muy importante identificar rápidamente el inicio de la misma (2).
- La antibioterapia es efectiva en animales con afección clínica sólo en la fase inicial de la enfermedad, que es cuando puede reducirse la mortalidad. Un tratamiento tardío no previene lesiones crónicas aunque el animal se recupere. La antibioterapia no elimina la infección de la granja aunque exista éxito clínico (23).
- Independientemente de que a veces los resultados de los antibiogramas pueden aconsejar la utilización de otros antibióticos, la experiencia clínica nos indica que los antibióticos de elección son: amoxicilina, ampicilina, ceftiofur, enrofloxacin, oxitetraciclina (acción prolongada en casos crónicos) (55 y 56).

### **Tratamiento por vía parenteral:**

Es la mejor vía de tratamiento debido al curso agudo de la enfermedad. Para conseguir elevados y eficaces concentraciones en sangre, los tratamientos deben aplicarse cada 8 horas durante el primer día y cada 12 horas los dos días siguientes con alguno de los antibióticos anteriormente citados (55 y 56).

### **Tratamiento por vía oral (agua y/o alimento):**

El tratamiento en el agua de bebida puede utilizarse en animales que aún tienen capacidad de beber (fases iniciales de la enfermedad). Esta vía es bastante efectiva para prevenir la enfermedad cuando se realiza de forma estratégica tratando los animales durante 4-7 días con algunos de los siguientes antibióticos: tiamulina, trimetoprim/sulfametoxazol, amoxicilina, florfenicol y tilmicosina (2 y 57).

La medicación en el alimento debe plantearse siempre como estratégica y siempre que los animales estén comiendo. Los antibióticos recomendados son los mismos que para el tratamiento en agua de bebida pero con dosis doble por tonelada de alimento. El uso de tilmicosina, amoxicilina, tiamulina-clortetraciclina, florfenicol en el alimento dan resultados bastante efectivos (2).

Una combinación de la medicación oral y parenteral en un brote reciente, normalmente ofrece los mejores resultados (2).

Se han descrito resistencias a ampicilina, estreptomicina, sulfonamidas, tetraciclinas y cloranfenicol en los serotipos 1, 3, 5 y 7 (58 y 59).

Se recomienda el uso de antibiograma cuando hay problemas con el tratamiento (1, 2 y 60).

### **ERRADICACIÓN.**

Antes de plantearse un programa de erradicación es importante considerar:

- Pérdidas económicas que ocasiona.
- Proximidad a otras explotaciones.
- Posibilidades reales de control de la enfermedad sin necesidad de medicar.

Los métodos posibles de erradicación son los siguientes:

- Despoblación - repoblación: la práctica de esta técnica no suele justificarse cuando sólo se realiza para erradicar pleuroneumonía porcina.

- Prueba y eliminación: en explotaciones con menos del 30% de prevalencia. Se realizan pruebas serológicas antes del parto. El destete se realiza a las 2 semanas segregando a un sitio 2 a los lechones de la explotación. Las cerdas positivas antes del parto se eliminan. Durante un mínimo de 6 meses no se realiza reposición y se practica medicación permanente en cerdas reproductoras para evitar reinfecciones. El proceso puede durar entre 6 - 12 meses. Esta técnica no tiene un éxito del 100% (57).



**OBJETIVO:**

Determinar el efecto de una bacterina subunitaria comercial para el control de *Actinobacillus pleuropneumoniae* sobre la ganancia diaria de peso, días a mercado, conversión alimenticia y tasa de mortalidad.

**HIPÓTESIS:**

La aplicación de una bacterina subunitaria para inmunización contra *Actinobacillus pleuropneumoniae* mejorará los parámetros de ganancia diaria de peso, días a mercado, conversión alimenticia y tasa de mortalidad.

## **MATERIAL Y MÉTODOS:**

El trabajo de tesis se realizó en una granja porcina comercial de ciclo completo con un inventario de 1200 vientres ubicada en el municipio de Texcoco, Estado de México.

La granja tiene un promedio de 520 lechones destetados por semana, a 20 días de edad y con un peso promedio de 6.2 kg.

Se envían a naves de destete con capacidad para 300 lechones distribuidos en 12 jaulas elevadas de piso de malla de acero de 25 lechones cada una, y una superficie estimada de 0.40 m<sup>2</sup> por cerdo. Estas naves se manejan en sistema Todo Dentro/Todo Fuera, tienen calefacción a base de calentadores de gas y la ventilación es con extractores eléctricos; éstas se manejan con un programador electrónico. Se conserva una temperatura promedio de 24 a 28 °C.

Los cerdos se envían a la nave de engorda con un promedio de 70 días de edad, y un peso promedio de 23 ± 3 kg.

Las naves de engorda tienen una parte techada y una parte al medio ambiente, con capacidad de 600 cerdos ubicados en corraletas de 25 animales. Las naves se encuentran con una temperatura interna promedio de 16 a 22 °C, y se utilizan cortinas para el control de ésta. Se estima un espacio techado de 0.70 m<sup>2</sup> por cerdo. También se manejan en sistema Todo Dentro/Todo Fuera, con lavado con máquina de agua a presión, aplicación de desinfectante (cuaternario de amonio) y secado por 3 días antes de recibir animales.

Se seleccionaron dos grupos de 1921 cerdos para el grupo experimental (V) y 1932 cerdos para el grupo control (NV), ambos con una edad promedio 70 días de edad con un peso promedio de 23 kg. (± 3 kg.).

El grupo experimental se vacunó con una bacterina comercial para la inmunización contra *Actinobacillus pleuropneumoniae* (Porcilis APP, Lab. Intervet) la cual es subunitaria elaborada a partir de toxina ApxIV. El grupo control no recibió el producto, sólo se le aplicó solución salina estéril.

La aplicación de la bacterina se efectuó a la 7ª y 9ª semana de edad. La dosis fue de 2 ml por cerdo vía intramuscular profunda.

Ambos grupos recibieron alimento de crecimiento de la 10ª a la 13ª semana, de desarrollo de la 14ª a la 20ª y de finalización de la 21ª a la venta. El alimento se medicó en crecimiento con 100 ppm de tiamulina y 300 ppm de clortetraciclina, en desarrollo con 50 ppm de tiamulina y 150 ppm de clortetraciclina durante la primera semana de cada cambio de etapa, por ser parte del manejo de la granja. El finalizador no se medicó.

En ambos grupos se midió el peso de inicio de los cerdos, consumo de alimento, ganancia diaria de peso, días a mercado, peso final a mercado, tasa de mortalidad y se estimó la conversión alimenticia y el promedio de peso a 170 días para fines de comparación de grupos.

Los datos de los grupos se evaluaron estadísticamente por medio de la prueba de "T" de Student con  $P = <0.05$ .

## **RESULTADOS.**

En el cuadro 1 se anota el número de cerdos que integran el grupo vacunado (V) y el grupo no vacunado (NV), el número de días promedio de edad con que inician la prueba y el peso promedio de cada grupo en su ingreso a la nave de engorda. Como puede observarse la diferencia entre grupos es mínima y no presenta diferencia estadística.

En el cuadro 2 se anota el número de cerdos vendidos de primera y de segunda, entendiendo como cerdos de segunda los que no superan los 60 kg de peso a 180 días de edad. En este sentido se observa una menor cantidad de cerdos de segunda en el grupo vacunado, sin embargo estadísticamente no hay diferencia. También se exponen los kilogramos totales vendidos de cada grupo y los días de estancia promedio por cerdo en la etapa de engorda, en donde el grupo no vacunado tuvo 7.86 días más de estancia por cerdo.

En el cuadro 3 se observa el número de días a rastro, con una ventaja en el grupo vacunado, sin embargo esta diferencia no es estadísticamente significativa. También se expone la mortalidad promedio por grupo en donde el grupo no vacunado tuvo 1.45 % más de mortalidad que el grupo vacunado, lo que no tiene diferencia estadística significativa.

El cuadro 4 ilustra el peso promedio a la venta, con una ventaja de 4.87 kg/cerdo en el grupo vacunado y en este caso si hay diferencia estadística. También se observa los promedios de ganancia diaria de peso. En la etapa de engorda el grupo vacunado aventaja con una ganancia de 86.68 g diarios/cerdo al grupo no vacunado y esto también es estadísticamente significativo.

El cuadro 5 nos muestra el estimado de días requeridos para alcanzar los 100 kg de peso y observamos que el grupo no vacunado requirió de 16.69 días/cerdo más para llegar a este peso. También en relación con la ganancia total de peso se observa una ventaja de 4.25 kg/cerdo en el grupo vacunado. Ambos datos presentan una diferencia estadísticamente significativa.

Cuadro 1. Número de cerdos de los grupos vacunado (V) y no vacunado (NV), edad en días y peso promedio de cada grupo al inicio de la prueba.

GRUPO	Cerdos que		Entrada a Engorda	
	Entran Eng.	Salen Eng.	Edad (días)	Peso (kg)
V	1,921 <sup>a</sup>	1,873 <sup>a</sup>	74.00 <sup>a</sup>	25.34 <sup>a</sup>
NV	1,932 <sup>a</sup>	1,856 <sup>a</sup>	73.86 <sup>a</sup>	24.73 <sup>a</sup>
Valor de P	0.337	0.354	0.443	0.189

Cuadro No. 1. Prueba T de Student; valor de P = <0.05

Cuadro 2. Número de cerdos vendidos de primera y segunda calidad, kilogramos totales vendidos y días promedio de estancia en engorda en los grupos vacunado (V) y no vacunado (NV).

GRUPO	Cerdos vendidos		Kilos totales vendidos	Días de estancia Engorda
	1 <sup>a</sup>	2 <sup>a</sup>		
V	1,800 <sup>a</sup>	73 <sup>a</sup>	186,887.94 <sup>a</sup>	105.40 <sup>a</sup>
NV	1,749 <sup>a</sup>	107 <sup>a</sup>	185,191.68 <sup>a</sup>	113.29 <sup>a</sup>
Valor de P	0.374	0.138	0.354	0.067

Cuadro No. 2. Prueba T de Student; valor de P = <0.05

Cuadro 3. Edad promedio a la venta y porcentaje de mortalidad en los grupos vacunado (V) y no vacunado (NV).

GRUPO	Edad a sacrificio (días)	Mortalidad en Engorda	
		Número	Porcentaje
V	179.40 <sup>a</sup>	48.00 <sup>a</sup>	2.48 <sup>a</sup>
NV	187.14 <sup>a</sup>	76.00 <sup>a</sup>	3.93 <sup>a</sup>
Valor de P	0.065	0.086	0.069

Cuadro No. 3. Prueba T de Student; valor de P = <0.05

Cuadro 4. Peso promedio a la venta, estimado de GDP del nacimiento a la venta y estimado de GDP en la etapa de engorda en los grupos vacunado (V) y no vacunado (NV).

GRUPO	Peso de venta (kg)	GDP (gramos)	
		Nac.-Venta	En Engorda
V	104.98 <sup>a</sup>	585.25 <sup>a</sup>	757.43 <sup>a</sup>
NV	100.11 <sup>b</sup>	540.00 <sup>b</sup>	670.75 <sup>b</sup>
Valor de P	0.020	0.013	0.008

Cuadro No. 4. Prueba T de Student; valor de P = <0.05

Cuadro 5. Estimado de edad a 100 kg de peso, porcentaje de cerdos vendidos de primera y ganancia promedio de peso en la etapa de engorda en los grupos vacunado (V) y no vacunado (NV).

<b>GRUPO</b>	<b>Edad ajustada 100 kilos</b>	<b>Ganancia total en engorda (kg)</b>
<b>V</b>	171.28 <sup>a</sup>	79.64 <sup>a</sup>
<b>NV</b>	185.97 <sup>b</sup>	75.39 <sup>b</sup>
<b>Valor de P</b>	0.010	0.030

Cuadro No. 5. Prueba T de Student; valor de P = <0.05

**Diferente literal indica diferencia estadísticamente significativa.**

## DISCUSIÓN.

*Actinobacillus pleuropneumoniae* (APP) es el agente causal primario de la pleuroneumonía del cerdo, enfermedad de distribución mundial en la población porcina, que ocasiona pérdidas millonarias tanto por la alta tasa de morbilidad y mortalidad que provoca en la fase aguda, como por el retraso en lograr el peso comercial adecuado como consecuencia de la pobre conversión de alimentos en la fase crónica (61).

A pesar de muchos estudios de investigación, una bacterina APP completamente eficaz no se encuentra comercialmente disponible. Sin embargo, varios experimentos han demostrado que la vacunación con líneas homólogas de APP reducen o previenen la mortalidad y permiten una ganancia adecuada (61).

La infección aerógena con ambos serotipos homólogos y heterólogos produjeron adecuada inmunidad cruzada, pero la vacunación no lo hizo (61).

En este trabajo se obtuvo una disminución de la mortalidad, sin embargo no resultó estadísticamente significativa.

En un estudio realizado con 60 cerdos a los que se aplicó una bacterina inactivada con los serotipos 1, 3 5 y 9 y distribuidos en un grupo vacunado intramuscularmente, un grupo con vacuna subcutánea y un grupo control y desafiados con un sólo serotipo de APP se observó que los grupos vacunados presentaron reducción de mortalidad, lesiones pulmonares, adhesiones pleurales y aislamiento de APP de tonsila y pulmón. No hubo diferencias significativas entre las rutas de vacunación IM y SC. La evidencia de protección fue la disminución en la mortalidad y lesiones pulmonares e incremento en la ganancia diaria de peso en vacunados en comparación con los controles (61). En este sentido en el presente trabajo se observa una reducción de mortalidad de -1.45% en el grupo vacunado, así como una ganancia diaria de peso de +45.25 grs/diarios en el grupo vacunado, en este caso estadísticamente significativo ( $P = <0.05$ ). No se efectuó evaluación de lesiones, por lo que este dato no se puede comparar.

En la vacunación por cualquier ruta IM o SC se mostró una disminución significativa en la presencia de lesiones pulmonares, adherencias pleurales y en el re-aislamiento de APP de tonsilas y de pulmones (61).

En un experimento en el que se utilizó la bacterina Porcilis APP y una vacuna viva experimental se observó que al realizar un desafío con App serotipos 1 y 15 los grupos vacunados presentaron una protección significativa en términos de signos clínicos, lesiones pulmonares, tasa de re-aislamiento y ganancia diaria de peso. Y sólo la vacuna Porcilis APP tuvo un efecto significativo en la reducción de mortalidad. En los cerdos desafiados con el serovar 15 la única diferencia detectada fue que los cerdos vacunados con Porcilis APP tuvieron una mejor ganancia diaria promedio post-prueba que los controles (62). En este trabajo en el que también se evaluó la bacterina Porcilis APP contra un desafío natural se obtuvieron mejoras en la ganancia diaria de peso estadísticamente significativas y reducción de mortalidad.

En un trabajo en el que se determinó la eficacia de dos bacterinas comerciales inactivadas que contienen las toxinas Apx de APP y en el que los cerdos se desafiaron a través de una inoculación endobronquial de una cepa de APP serotipo 9. Se observó un menor porcentaje de lesiones pulmonares en los dos grupos vacunados comparados con el grupo control, también se logró el aislamiento de la cepa de APP de todos los animales control y del 70% de los animales vacunados. Se concluyó que ambas vacunas inducen protección parcial (63). En este trabajo los animales fueron sacrificados a los 7 días post-inoculación por lo que no se midieron variables como ganancia diaria de peso o días a mercado, por lo que no podemos compararlo con este trabajo, sin embargo nos sirve como referencia del nivel de protección de la bacterina ante un desafío.

En una prueba en la que se tuvo un grupo vacunado con una vacuna preparada a base de una mezcla emulsificada a base de toxinas de APP serotipos 1, 2 y 5 y otro grupo vacunado con una bacterina comercial que contiene bacterias muertas de APP serotipo 2. Se observó que en ambos grupos se presentaron signos clínicos respiratorios como tos y estornudo alrededor de 60 días post-vacunación. El primer grupo tuvo 5% de mortalidad y el de la vacuna comercial tuvo un 10%. Y no se observaron diferencias



significativas en el peso a la venta, que fue de 107 kg con 220 días de edad en ambos grupos. En la medición de anticuerpos se observó una mayor titulación en el grupo de la vacuna emulsificada (64). En este trabajo sólo se utilizó vacuna comercial a base de toxinas semejante a la vacuna emulsificada.

En una prueba en la que se evaluó el efecto de la infección natural por APP en una nave con 240 cerdos con un peso promedio de 18.6 kg al inicio de la evaluación se observó un incremento en el título de anticuerpos contra APP en 28 cerdos. Estos animales se consideraron infectados y presentaron una ganancia diaria de peso de 0.74 +/- 0.10kg. En comparación los animales no infectados seronegativos tuvieron una ganancia diaria de peso de 0.77 +/- 0.09 kg. Se observó que se requirieron 5.64 días adicionales para cerdos con infección subclínica para llegar a la ganancia de peso marcada de 113.6 kg (65). En este trabajo encontramos que los animales no vacunados tuvieron una ganancia diaria de peso de 670.75 g y los vacunados de 757.43 g, con una diferencia de 14.69 días para alcanzar 100 kg a favor del grupo vacunado.

En un experimento realizado en México en una granja comercial en donde se presenta un grupo vacunado con una bacterina que contiene los serotipos 1 a 9 de APP y un grupo control sin vacuna se observó que la mortalidad en el grupo control fue de 5.75% contra un 3.61% del grupo vacunado; éstos resultados son semejantes a este trabajo en el que se obtuvo una mortalidad de 3.93 % en el grupo control y 2.48 % en el grupo vacunado. Con relación al peso de venta los días promedio de venta para ambos grupos fueron 159.7, con un promedio de peso de 84 kg en el grupo vacunado y 78.5 en el grupo no vacunado, lo cual coincide con este trabajo en el que el peso de venta fue de 104.98 kg y 179.4 días de edad en el grupo vacunado contra 100.11 kg y 187.14 días de edad en el grupo control. La ganancia diaria de peso en este trabajo fue de 585.25 gramos en el grupo vacunado y 540 gramos en el grupo control (66).

En una prueba realizada en una granja comercial del norte de México en condiciones semejantes a este trabajo con medicación en el alimento a base de florfenicol a dosis de 40 ppm y con un grupo vacunado con bacterina comercial de APP a las semanas 6 y 9 de edad se observó una tasa de mortalidad de 12 % en el grupo no vacunado contra 4 % en el grupo tratado (67). En este trabajo se obtuvo una tasa de mortalidad del 3.93 % en

el grupo control y 2.48 % en el grupo tratado. Aunque hay diferencias en los porcentajes de ambos trabajos la mejoría en los grupos vacunados es semejante.

## **CONCLUSIONES.**

La bacterina subunitaria utilizada para el control de la Pleuroneumonía Contagiosa Porcina es una herramienta que puede mejorar la eficiencia productiva en las granjas de cerdos, en particular en los parámetros de mortalidad en la engorda, días a mercado, ganancia diaria de peso, porcentaje de venta de cerdos de primera.

El efecto de la bacterina puede variar dependiendo del programa de vacunación elegido, la virulencia de la bacteria, los serotipos presentes en la granja y la etapa de crecimiento en que se presente la infección.

Las inmunizaciones sólo tendrán el éxito deseado si las condiciones en las que tenemos a los animales son las adecuadas para su desarrollo, es decir, si los animales se encuentran en un ambiente con una ventilación y temperatura óptimas, sin corrientes de aire, ni exceso de humedad en las salas y por supuesto con una adecuada nutrición acorde a cada etapa de su vida.

## BIBLIOGRAFÍA.

- 1) Gottschalk M. Tendencias actuales en el control de Actinobacillus, Hemophilus y Streptococcus. XXXIV Congreso Nacional de la Asociación Mexicana de Veterinarios Especialistas en Cerdos; 2004, julio 28-agosto 1º; Mazatlán, (Sinaloa) México: 82-91.
- 2) Taylor DJ. Actinobacillus pleuropneumoniae. Diseases of swine 8<sup>th</sup> Ed. Iowa State University Press. Ames Iowa, USA. 1999;343-354.
- 3) Alcántara T, Mendoza ES, Altamirano A, Oliva D, Trejo R, Hernández-Baugartem E, *et al.* Evaluación serológica de las pruebas de ELISA y Neumotest en cerdos vacunados con bacterina de Actinobacillus pleuropneumoniae comercial. XXXIV Congreso Nacional de la Asociación Mexicana de Veterinarios Especialistas en Cerdos; 2004, julio 28-agosto 1º; Mazatlán, (Sinaloa) México: 238.
- 4) Ochoa G, Pijoan C. Neumonías severas en cerdos causadas por Haemophilus paraahaemolyticus. Memorias del Congreso Nacional de la Asociación Mexicana de Veterinarios Especialistas en Cerdos; 1978; Los Mochis (Sinaloa) México:55-59.
- 5) Mendoza ES, Ciprián CA, editores. Tercer Ciclo Nacional Enfermedades Respiratorias del cerdo. México: Universidad Nacional Autónoma de México, 2001:75-84.
- 6) Utrera V, Pijoan C. Fimbriae in Actinobacillus pleuropneumoniae strains isolated from pig respiratory tracts. Vet Rec 1991;128:357-358.
- 7) Pohl S, Bertschinger HU, Frederiksen W, Manheim W. Transfer of Haemophilus pleuropneumoniae and the Pasteurella haemolytica-like organism causing porcine necrotic pleuropneumonia to the genus Actinobacillus (Actinobacillus pleuropneumoniae comb. Nov.) on the basis of phenotypic and deoxyribonucleic acid relatedness. Inst J Syst Bacteriol 1983;33:510-514.

- 8) Rapp VJ, Ross RF, Young TF. Characterization of Haemophilus spp. Isolated from healthy swine and evaluation of cross-reactivity of complement-fixing antibodies to Haemophilus pleuropneumoniae and Haemophilus taxon "Minor group". J Clin Microbiol 1985;22:945-950.
- 9) Nielsen R. Serology of Haemophilus (Actinobacillus) pleuropneumoniae serotype 5 strains: Establishment of subtypes A and B. Acta Vet Scand 1986;27:49-58.
- 10) Curso digital de enfermedades infecciosas porcinas. Sánchez. Vizcaíno. Ed. SYVA. Madrid: España; 2003.
- 11) Perry MB, Altman E, Brisson JR, Beynon LM, Richards JC. Structural characteristics of the antigenic capsular polysaccharides and lipopolysaccharides involved in the serological classification of Actinobacillus (Haemophilus) pleuropneumoniae strains. Serodiagnosis and Immunotherapy in Inf Dis 1990;4:299-308.
- 12) Frey J, Bosse JT, Chang YF, Cullen JM, Fendwick B, Gerlach GF, *et al.* Actinobacillus pleuropneumoniae RTX toxins: Uniform designation of haemolysins, cytolytic pleurotoxin and their genes. J Gen Microbiol 1993;139:1723-1728.
- 13) Jansen R, Briare J, Geel ABMV, Kamp EM, Gielkens ALJ, Smits MA. Genetic map of the Actinobacillus pleuropneumoniae RTX-toxin (apx) operons: Characterisation of the apxIII operons. Inf and Imm 1994;62:4411-4418.
- 14) Dreyfus A, Schaller A, Nivoller S, Segers RP, Kobisch M, Mieli L. Use of recombinant ApxIV in serodiagnosis of Actinobacillus pleuropneumoniae infections, development and prevalidation of the ApxIV ELISA. Vet Microbiol. 2004;99:227-238.
- 15) Pol JMA, Leengoed LAMGV, Stockhofe N, Kok G, Wensvoort G. Dual infections of PRRS/influenza or PRRS/Actinobacillus pleuropneumoniae in the respiratory tract. Vet Micro 1997;55:259-264.
- 16) Utrera V, Pijoan C, Villalobos J, Rausseo L, Lopez H, Fuentes D, Bordones A, Cano J. Field trial to evaluate the efficacy of an autogenous vaccine against Actinobacillus pleuropneumoniae containing whole cell and Apx I toxoid. Proc. 16th IPVS Congress. Melbourne, Australia, 2000:66.

- 17) Belanger M, Dubreuil D, Jacques M. Proteins found within porcine respiratory tract secretions bind lipopolisaccharides of Actinobacillus pleuropneumoniae capsular layer. *Inf and Imm* 1994;62:868-873.
- 18) Rycroft AN, Cullen JM. Complement resistance in Actinobacillus (Haemophilus) pleuropneumoniae infection of swine. *Am J Vet Res* 1990;51:1449-1453.
- 19) Fenwick BW. Virulence attributes of the lipopolisaccharides of the HAP group of organisms. *Can J Vet Res* 1990;54:S28-S32.
- 20) Nicolet J. Overview of the virulence attributes of the HAP group of bacteria. *Can J Vet Res* 1990;54:S12-S15.
- 21) Nielsen R. Haemophilus pleuropneumoniae infection in pigs (thesis). Copenhagen, 1982.
- 22) Shope, RE, White DC, Leidy G. Porcine contagious pleuropneumonia. II. Studies of the pathogenicity of the etiological agent Haemophilus pleuropneumoniae. *J Exp Med* 1964;119:369-375.
- 23) Pijpers A, Vernooy JACM, Leengoed LAMGV, Verheijden JHM. Feed and water consumption in pigs following an Actinobacillus pleuropneumoniae challenge. *Porc Int Congr Pig Vet Soc* 1990;11:39.
- 24) Wilson R, Kierstead M. Haemophilus paraahaemolyticus associated with abortion in swine. *Can Vet J* 1976;17:222.
- 25) Duff JP, Scout JW, Wilkes MK, Hunt B. Otitis in a weaned pig: A new pathological role for Actinobacillus (Haemophilus) pleuropneumoniae. *Vet Rec* 1996;139:561-563.
- 26) Bertram TA. Intravascular macrophages in lungs of pigs infected with Haemophilus pleuropneumoniae. *Vet Pathol* 1986;23:681-691.
- 27) Bertram TA. Pathobiology of acute pulmonary lesions in swine infected with Haemophilus (Actinobacillus) pleuropneumoniae. *Can Vet J* 1988;29:574-577.
- 28) Liggett AD, Harrison LR. Sequential study of lesion development in experimental haemophilus pleuropneumonia. *Res Vet Sci* 1987;42:204-221.
- 29) Nielsen R. Seroepidemiology of Actinobacillus pleuropneumoniae. *Can Vet J* 1988;29:580-582.

- 30) Jacobsen MJ, Nielsen JP. Development and evaluation of a selective and indicator medium for isolation of Actinobacillus pleuropneumoniae from tonsils. *Vet Micro* 1995;47:191-197.
- 31) Lairini K, Stenbaek E, Lacouture S, Gottschalk M. Production and characterisation of monoclonal antibodies against Actinobacillus pleuropneumoniae serotype 1. *Vet Micro* 1995;46:369-381.
- 32) Rodríguez-Barbosa JL, Gutiérrez CB, Tascón RL, Suárez J, Noronia F, Rodríguez-Ferri EF. Characterisation of monoclonal antibodies to O antigen of lipopolysaccharide of Actinobacillus pleuropneumoniae serotype 2 and their use in the classification of field isolates. *FEMS Immunol and Med Micro* 1995;11:35-44.
- 33) Little TWA, Harding JDJ. The comparative pathogenicity of two porcine Haemophilus species. *Vet Rec* 1971;88:540-545.
- 34) Glibride KA, Rosendal S. Evaluation of a selective medium for isolation of Haemophilus pleuropneumoniae. *Can J Comp Med* 1983;47:445-450.
- 35) Mittal KR, Higgins R, Lariviere S, Leblanc D. A 2-mercaptoethanol tube agglutination test for diagnosis of Haemophilus pleuropneumoniae infection in pigs. *Am J Vet Res* 1984;45:715-719.
- 36) Broes A, Gottschalk M. Why and how to diagnose Actinobacillus pleuropneumoniae sub-clinical infections. *American Association Of Swine Veterinarians*; 2007; Québec, Canadá: 193-197.
- 37) Gottschalk M, Altman E, Charland N, Lasalle FD, Dubreuil JD. Evaluation of a saline boiled extract, capsular polysaccharides and long-chain lipopolysaccharides of Actinobacillus pleuropneumoniae serotype 1 as antigens for the serodiagnosis of swine pleuropneumonia. *Vet Micro* 1994;42:91-104.
- 38) Yolken RH, Lesiter FJ, Whitcomb LS, Samtoshaw M. Enzyme immunoassay for the detection of bacterial antigens utilizing biotin-labeled and peroxidase biotin-avidin complex. *J Immunol Meth* 1983;56:319-327.
- 39) Ajito T, Haga Y, Homma S, Goryo M, Okada K. Immunohistological evaluation on respiratory lesions of pigs intranasally inoculated with Actinobacillus pleuropneumoniae serotype 1. *J Vet Med Sci* 1996;58:297-303.

- 40) Takashima H, Sakai H, Yamai T, Masegi T. Detection of antibodies against Actinobacillus pleuropneumoniae serotype 1, 2, 5 and 7 using the immunohistochemical staining. J Vet Med Sci 1999;61:713-716.
- 41) Gram T, Ahrens P, Nielsen JP. Evaluation of a PCR for detection of Actinobacillus pleuropneumoniae in mixed bacterial cultures from tonsils. Vet Micro 1996;51:95-104.
- 42) Gutiérrez CB, Barbosa JLR, Suárez J, González OR, Tascon RI, Ferri EFR. Efficacy of a variety of desinfectants against Actinobacillus pleuropneumoniae serotype 1. Am J Vet Res 1995;56:1025-1029.
- 43) Utrera V, Pijoan C, Villalobos J, Rausseo L, Lopez H, Fuentes D, Bordones A, Cano J. Field trial to evaluate the efficacy of an autogenous vaccine against Actinobacillus pleuropneumoniae containing whole cell and ApxI toxoid. Proc. 16th IPVS Congress. Melbourne, Australia, 2000:66.
- 44) Kristensen CS, Andreasen M, Ersboll AK, Nielsen JP. Antibody response in sows and piglets following vaccination against Mycoplasma hyopneumoniae, toxigenic Pasteurella multocida and Actinobacillus pleuropneumoniae. Can J Vet Res 2004;68:66-70.
- 45) Nielsen R. Haemophilus pleuropneumoniae serotypes-cross protection experiments. Nord Vet Med 1984;36:221-234.
- 46) Nielsen R. Haemophilus pleuropneumoniae (Actinobacillus pleuropneumoniae) serotypes 8, 3 and 6- serological response and cross immunity in pigs. Nord Vet Med 1985;37:217-227.
- 47) Straw BE, MacLachlan NJ, Corbett WT, Carter PB, Schey HM. Comparison of tissue reactions produced by Haemophilus pleuropneumoniae vaccines made with six different adjuvants in swine. Can J Comp Med 1985;49:149-151.
- 48) Haga Y, Ogino S, Ohashi S, Ajito T, Hashimoto K, Sawada T. Protective efficacy of an affinity purified haemolysin vaccine against experimental swine pleuropneumonia. J Vet Med Sci 1997;59:115-120.
- 49) Valks MMH, Nell T, Bosch JEVD. A clinical field trial in finishing pigs to evaluate the efficacy of a new APP subunit vaccine. Proc Int Congr Pig Vet Soc 1996;14:208.



- 50) Tumamao JQ, Bowles RE, van den Bosch H, Klaasen HL, Fenwick BW, Blackall PJ. An evaluation of the role of antibodies to Actinobacillus pleuropneumoniae serovar 1 and 15 in the protection provided by sub-unit and live streptomycin-dependent pleuropneumonia vaccines. *Aust Vet J.* 2004;82:773-780.
- 51) Broes A, Gottschalk M. Why and how to diagnose Actinobacillus pleuropneumoniae sub-clinical infections. *Procc. 2007 American Association of Swine Veterinarians. Annual Meeting. Orlando, Florida, USA. 2007:193-197.*
- 52) Herrera JD, Francos A, Lucio DE, Gómez EI, Coeto MA, Pradal-Roa PJ. Evaluación de la respuesta inmune de 3 bacterinas comerciales contra App., por medio de una prueba de ELISA indirecta para los serotipos: 5<sup>a</sup>, 5b, 1, 9 y 11. *XLI Congreso Nacional de la Asociación Mexicana de Veterinarios Especialistas en Cerdos; 2006, julio 16- julio 19; Ixtapa, (Guerrero) México: 199.*
- 53) Larsen H, Hogedahl JP, Szancer J. Eradication of Actinobacillus pleuropneumoniae from a breeding herd. *Proc Int Congr Pig Vet Soc 1990;11:18.*
- 54) Larivière S, D'Allaire S, De Lasalle F, Nadeau M, Moore C, Ethier R. Eradication of Actinobacillus pleuropneumoniae serotype 1 and 5 infections in four herds. *Proc Int Congr Pig Vet Soc 1990;11:17.*
- 55) Kobisch M, Vannier P, Delaporte S, Dellac B. The use of experimental models to study in vivo the antibacterial activity of Enrofloxacin against Actinobacillus (Haemophilus) pleuropneumoniae and Mycoplasma hyopneumoniae in combination with Pasteurella multocida. *Proc Int Congr Pig Vet Soc 1990;11:16.*
- 56) Stephano A, Navarro R, Rayo CD, Osorio M. Effect of the use of ceftiofur sodium injectable (Excenel sterile powder) for the treatment of induced Actinobacillus pleuropneumoniae: Multiple dose titration study. *Proc Int Congr Pig Vet Soc 1990;11:41.*
- 57) Anderson MD, Williams JA. Effects of tiamulin base administered intramuscularly to pigs for treatment of pneumonia associated with Actinobacillus pleuropneumoniae. *Proc Int Congr Pig Vet Soc 1990;11:15.*

- 58) Gilbride KA, Rosendal S. antimicrobial susceptibility of 51 strains of Haemophilus pleuropneumoniae. Can J Comp Med 1984;48:47-50.
- 59) Vaillancourt JP, Higgins R, Martineau GP, Mittal KR, Lariviere S. Changes in the susceptibility of Actinobacillus pleuropneumoniae to antimicrobial agents in Quebec (1981-1986). J Am Vet Med Assoc 1988;193:470-473.
- 60) Pineda Y, De López A, De Aponte F, De Parra C, Santander J. Serotipos de Actinobacillus pleuropneumoniae aislados de cerdos en Venezuela y su susceptibilidad a los agentes antimicrobianos. Veterinaria Tropical 1996; 21: 35-47.
- 61) Kazimierz T, Zygmunt P, Alex H, Michael PC. Efficacy of an Actinobacillus pleuropneumoniae bacterin against serotypes 1, 3, 5 and 9. Can Vet J. 1994;35:233-238.
- 62) Tumamao JQ, Bowles RE, van den Bosch H, Klaasen HL, Fenwick BW, Storie GJ, Blackall PJ. Comparison of the efficacy of a subunit and a live streptomycin-dependent porcine pleuropneumonia vaccine. Aust Vet J. 2004;82:370-374.
- 63) Chiers K, van Overbeke I, De Laender P, Ducatelle R, Carel S, Haesebrouck F. Effects of endobronchial challenge with Actinobacillus pleuropneumoniae serotype 9 of pigs vaccinated with inactivated vaccines containing the Apx toxins. Vet Q. 1998;20:65-69.
- 64) Oishi E, Kitajima T, Nakamura H, Matsuda C, Amimoto K, Yasuhara H. A field trial of oil adjuvanted trivalent Actinobacillus pleuropneumoniae vaccine. J. Vet. Med. Sci. 1997;59:421-423.
- 65) Rohrbach BW, Hall RF, Hitchcock JP. Effect subclinical infection with Actinobacillus pleuropneumoniae in commingled feeder swine. J Am Vet Med Assoc. 1993;202:1095-1098.
- 66) Huerta O, Herrera D, González N, Arrieta M. Results of the usage of a bacteria against Actinobacillus pleuropneumoniae in hog faro in central region in Mexico. Memorias del XXXIV Congreso Nacional de la Asociación Mexicana de Veterinarios Especialistas en Cerdos; 2004, julio 28-agosto 1º; Mazatlán, (Sinaloa) México:12.

67) Herrera D, Huerta O, Delgadillo J, Evans D, Sánchez R. Evaluación de el costo beneficio de usar una bacterina contra pleuropneumonia porcina, contra un programa de medicación continua en el alimento en la línea de engorda. Memorias del XXXIV Congreso Nacional de la Asociación Mexicana de Veterinarios Especialistas en Cerdos; 2004, julio 28-agosto 1º; Mazatlán, (Sinaloa) México:11.