

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
CUAUTITLAN

EVALUACIÓN SEROLÓGICA EN CERDOS VACUNADOS
CON BACTERINA DE *Actinobacillus peluropneumoniae*.

T E S I S
QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:
QUIMICA FARMACEUTICA BIOLOGA.

P R E S E N T A :
TANIA ALCANTARA GUADARRAMA.

ASESORES: DRA. SUSANA E. MENDOZA ELVIRA
DR. ABEL CIPRIAN CARRASCO



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 DIOS:

Por ser el guía de mi vida, por regalarme una familia maravillosa, por permitirme realizar un sueño que parecía no llegaría, y por todas las bendiciones que me brinda.

A MIS PADRES:

Por darme la vida, por amarme y enseñarme a luchar por mis sueños, por apoyarme en las buenas y en las malas, por no perder la fe en mí, y por todo lo que me enseñaron, esto me convirtió en la mujer que soy ahora.

A MIS HERMANOS:

MIMIS: *Por conocer mis defectos y aun así quererme y apoyarme siempre, por compartir conmigo momentos de dicha y llanto, gracias por formar parte de mi sueño, tú mejor que nadie sabes lo que esto significa para mí, Te quiero mucho, eres una mujer de la cual me siento orgullosa.*

PONCHO: *Gracias por quererme, apoyarme, por tus consejos por tu compañía y protección todos estos años, a pesar de no estar siempre de acuerdo no perdiste la fe, por compartir conmigo mi sueño, eres una persona sumamente especial de la cual aprendí que no se debe claudicar y que el esfuerzo y la dedicación tienen una recompensa, Te quiero.*

A MI ABUELITA:

Por ser un pilar importante en mi formación, por tu amor, afecto, por tus oraciones y bendiciones, mil gracias.

A MI TIA ROSY:

Por apoyarme siempre y aceptarme como soy, por creer en mí, por quererme incondicionalmente sin pedir nada a cambio, por tus bendiciones y buenos deseos.

AGRADECIMIENTOS:

A mí Familia: A todas mis tías y tíos, a mis primos y sobrinos, a todos ellos por su apoyo, por compartir conmigo tantos y tantos momentos especiales, gracias por todo.

A Sergio R.C.G.: Por brindarme tu amor desinteresado e incondicional todo el tiempo, tú también eres parte de este proyecto que hoy veo realizado, te quiero mucho.

A la Dra. Susy : Gracias por compartir conmigo sus conocimientos, por permitirme ser parte de su equipo y descubrir que no solamente en los libros y aulas se adquiere conocimiento, gracias por ser mi ejemplo, por darme mis jalones de orejas y por no permitirme darme por vencida, pero sobre todo por brindarme su amistad, la admiro y respeto mucho, es usted fuente de inspiración.

Al Dr. Abel: Por abrirme las puertas del laboratorio y de un sin fin de conocimiento.

Al M.V.Z. David Trujillo: Por su amistad, por las innumerables charlas, por todas las comidas compartidas, por los buenos momentos que siempre formaran parte de mi vida y por su asesoría en computación.

A mis Sinodales: Por enriquecer este trabajo y por todos los consejos que me brindaron, por ayudar en mi formación profesional.

Al Sr. Gabino Sánchez: Por el apoyo que me brindo, por su amistad, sus pláticas y consejos, por compartir conmigo todo este tiempo y formar parte de este proyecto.

Al Ing. Fernando Sotres C.: Por su asesoría técnica y por el apoyo que me brindo en la realización de este proyecto, por enriquecer mis conocimientos

A mis Profesores: Ma. Eugenia, Adriana, Alma, Gabriela, Ma. Luisa, entre muchos otros que me brindaron sus conocimientos y su apoyo a lo largo de la carrera, por prepararme para la vida profesional.

A mis amigos: Gaby, Ara, Judith, Silver, Vlados, Janys, Pao, Almiux, Luis A., Anel, Angelica, Marisol, Edmón y todos aquellos cuyos nombres olvide, que me apoyaron a través de los años y la carrera, por brindarme su amistad y por formar parte de mi vida, por que de alguna manera ustedes son responsables de que haya concluido una meta más, los llevo en mi corazón.

Hammus: Tú sabes todo lo que significas para mí, eres un pilar muy importante en mi vida, eres responsable en muchos sentidos de la culminación de este proyecto, gracias por permitirme formar parte de tu vida, por apoyarme y ser mi confidente y amigo, por no dejarme caer y por hacerme sentir especial, te admiro y te quiero.

Ceci: Eres una persona muy especial y sin ti tampoco hubiera sido posible cumplir mi objetivo, gracias por tu amistad incondicional, por estar a mi lado en las buenas y en las malas, por quererme y aceptarme como soy, te quiero mucho chiclito.

A Finca: En especial al Sr. José garcía y su esposa, a Alfonso, por darme la oportunidad de trabajar para ellos, por su confianza y por apoyo.

A la FESC: Por todo lo aprendido dentro y fuera de las aulas y por prepararme para un futuro mejor.

A todas las personas que de alguna u otra forma formaron parte de mi vida a lo largo de mi trayectoria académica, gracias por todas las experiencias vividas, en especial a J.M.G.N. quien pensó que sería incapaz de terminar la carrera, a ti te debo en parte el no darme por vencida.



Este trabajo se realizó en las instalaciones del Laboratorio de Virología y Microbiología de las Enfermedades Respiratorias de los cerdos, bajo la asesoría de la Dra. Susana E. Mendoza Elvira y el Dr. Abel Ciprián, en la Unidad de Posgrado e Investigación en la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, UNAM.

INDICE

	Pág.
RESUMEN	1
1. INTRODUCCIÓN	3
1.1. ANTECEDENTES.....	3
1.2. CARACTERISTICAS GENERALES DE <i>Actinobacillus pleuropneumoniae</i>	4
1.3. ETIOLOGÍA.....	4
1.3.1 ASPECTOS DE VIRULENCIA Y DAÑO PULMONAR.....	5
1.4. EPIDEMIOLOGÍA.....	8
1.5. PATOGENIA.....	9
1.5.1 CUADRO CLÍNICO Y CURSO.....	10
1.6. DIAGNÓSTICO.....	11
1.6.1 AISLAMIENTO Y TIPIFICACIÓN DE <i>Actinobacillus</i> <i>pleuropneumoniae</i> A PARTIR DE PULMONES DE CERDOS.....	13
1.7. TRATAMIENTO.....	14
1.8. INMUNIZACIÓN.....	15
1.9. VACUNACIÓN.....	18
1.10. TERAPIA Y PROFILAXIS.....	20
1.11. ERRADICACIÓN.....	21
1.12. NEUMOTEST.....	22
1.13. EXPLICACIÓN DEL PORQUE SE REALIZA LA PRUEBA.....	22
1.14. PRINCIPIO DEL PROCEDIMIENTO.....	23
1.15. JUSTIFICACIÓN DEL PROYECTO DE TESIS.....	24
1.16. HIPOTESIS.....	25

2.	OBJETIVOS	26
2.1	OBJETIVO GENERAL	26
2.2	OBJETIVOS PARTICULARES	26
3.	MATERIAL Y METODOS	27
3.1	ANIMALES	27
3.2	BIÓLOGICOS	27
3.3	INMUNIZACIÓN	27
3.4	SANGRADOS	27
3.4.1	DISTRIBUCIÓN DE CERDOS Y ADMINISTRACIÓN DE BACTERINA	28
3.5	VACUNACIÓN	31
3.5.1	EVALUACIÓN SEROLÓGICA	31
3.6	NEUMOTEST	32
4.	RESULTADOS DE NEUMOTEST	33
5.	DISCUSIÓN	46
6.	CONCLUSIONES	52
7.	REFERENCIAS	53

RESUMEN

Las infecciones respiratorias representan la causa principal de pérdidas económicas en la mayoría de las granjas porcinas a nivel internacional. Estas pueden reducir la tasa de crecimiento hasta en un 30% y afectar en 20% la conversión alimenticia. Al afectar de manera diferente a los cerdos de un corral, nave o granja, la tasa de crecimiento se ve alterada, incrementando el número de días de engorda, así como los costos de tratamiento.

Entre las principales infecciones respiratorias que afectan el crecimiento del cerdo se encuentra: Micoplasmosis, Actinobacilosis, PRRS (Síndrome Reproductivo y Respiratorio del Cerdo), Circovirus.

La frecuencia de las enfermedades respiratorias ha aumentado considerablemente a la vez que se intensifica la producción del ganado porcino; Las afecciones respiratorias tienen efecto sobre el estado general de salud del animal y sobre su desarrollo. Estas causas tan diversas son las que hacen difícil que el veterinario consiga resolver el problema de forma eficiente y sobre todo duradera.

La Pleuroneumonía Contagiosa Porcina (PCP) es una enfermedad devastadora, produce en los cerdos susceptibles una alta mortalidad y pérdidas económicas, debido a una mala conversión alimenticia en los animales infectados crónicamente.

Por lo tanto es necesario el empleo de técnicas que nos permitan un diagnóstico rápido del estado de los animales, para proponer un programa de prevención y control, así como el desarrollo de un tratamiento efectivo, en el cual la vacunación cumple un papel importante.

Neumotest es una prueba rápida para identificar los serotipos de *Actinobacillus pleuropneumoniae* en base al antígeno capsular tanto en el campo como en el laboratorio, ya que esta prueba se basa en la aglutinación del antígeno polisacárido capsular altamente purificado “*in situ*” de tal manera que los anticuerpos producidos por la infección o por la vacunación reciente son detectados en forma sencilla. El antígeno polisacárido capsular es un antígeno serotipo-específico muy confiable y muy específico para el diagnóstico serológico de PCP.

Se usaron 90 lechones de dos meses de edad, peso de 12.0 a 15.0 Kg. provenientes de granjas libres de PCP, PRRS, *Pasteurella multocida* y virus de la enfermedad de Aujeszky. Agrupados en 6 unidades de 25 animales cada uno, por serotipo 1, 2, 3, 4, 5 y 7, nombrados en unidades del 1 al 6.

El seguimiento serológico mostró que hubo una respuesta inmunológica contra los antígenos capsulares por la prueba de aglutinación.

Los animales se inmunizaron con 1 dosis (2 ml), denominado grupo A, el grupo B esta formado por cerdos sin vacuna (grupo control) y el grupo C es el de estabilidad (la vacuna que se empleo en este grupo fue de 1 año de vida de anaquel), la bacterina fue administrada por vía intramuscular (I.M.).

En cuanto a la evaluación de la bacterina en cerdos inmunizados y desafiados con *Actinobacillus pleuropneumoniae* serotipos 1, 2, 3, 4 ,5 y 7 mostraron que la bacterina protegió contra los serotipos empleados al desafío homologo.

1. INTRODUCCIÓN

1.1 ANTECEDENTES

Las enfermedades más comunes y que más gastos erogan de las granjas porcinas son las que afectan el aparato respiratorio y el sistema nervioso.

Las enfermedades respiratorias del cerdo, hoy en día están consideradas como uno de los problemas de salud animal más importantes en la producción porcina. Las neumonías y la rinitis atrófica, se caracterizan por permanecer en una explotación y causar una continua e insidiosa pérdida de las ganancias (Amass ,1988 y Loeffen ,1999).

La Pleuroneumonía Contagiosa Porcina (PCP), es una enfermedad fulminante, que ataca en tan solo cuatro horas a una piara susceptible y puede acabar hasta con 90% de ésta provocando serias mermas en la producción, retraso en el período de engorda, altos costos por consumo de medicamentos y requerimiento de asistencia veterinaria. (Torres, 1995). Esto es debido a la pobre conversión alimenticia de los animales infectados crónicamente (Ciprián, 1988 y Cowan, 1974).

El primer aislamiento de esta bacteria lo realizó Olander (California, EUA) en 1963, en cerdos con problemas neumónicos (Olander, 1963), ese mismo año Shope (Argentina) investigó un brote de tipo agudo en cerdos, después de una serie de estudios se llegó a la conclusión que ambas eran idénticas adquiriendo el nombre de *Haemophilus pleuropneumoniae* (Shope, 1964).

En la actualidad en base a estudios de hibridación de DNA esta bacteria se ha reubicado en el género *Actinobacillus* denominándosele *Actinobacillus pleuropneumoniae* (Pohl, 1983).

1.2 CARACTERÍSTICAS GENERALES DE *Actinobacillus pleuropneumoniae*

El *Actinobacillus pleuropneumoniae* es el agente causal más común de la Pleuroneumonía Contagiosa Porcina (PCP), una enfermedad severa y frecuentemente mortal que afecta al cerdo de cualquier edad; Los cerdos en crecimiento son los más severamente afectados, así como los inmunodeprimidos (Mendoza, Ciprián 2001).

La enfermedad fue reportada por primera vez por Pattison en 1957 (Estados Unidos), siguieron reportes en Gran Bretaña y Argentina. A partir de esta fecha tanto el microorganismo como la enfermedad se ha identificado en todo el mundo (Mendoza, Ciprián 2001).

Por estudios realizados en México sabemos que los serotipos más comunes son 1, 3, 5 y 7 tomando mayor importancia los brotes causados por el serotipo 1 (Lara, 2002).

Entre los factores que predisponen a los problemas respiratorios se encuentran los cambios bruscos de temperatura, malas condiciones de higiene, estrés debido al manejo y adquisición de nuevos animales. Algunos autores consideran que el factor más importante es la densidad de la población animal (Landquist, 1974 y Shultz, 1982) y otros estudios muestran que el manejo y el ambiente juegan un papel importante en la incidencia y gravedad de las neumonías (Landquist, 1974).

1.3 Etiología

El *Actinobacillus pleuropneumoniae* es una bacteria ampliamente distribuida en muchos países. La bacteria es Gram negativa y pleomórfica, se observa como un bacilo corto y encapsulado que mide de 0.5 – 1.5 μm de largo por 0.3 μm de ancho (Wilson, 1987; Lara, 2002; Straw, 1999).

Presenta cápsula, inmóviles (no posee flagelos), con actividad hemolítica, no produce esporas pero si toxinas, posee fimbrias citoadherentes y es anaerobio facultativo. Se han descrito 15 serovariedades, la especificidad serológica la dan los polisacáridos (Wilson, 1987; Lara, 2002; Straw, 1999).

Fue clasificada por estudios realizados sobre las bases fenotípicas y sobre el ácido desoxirribonucleico (ADN) de estas bacterias, cuando la especie es dependiente de nicotinamida adenina dinucleotido (NAD) pertenece a la biovariedad 1 y si no es dependiente de NAD a la biovariedad 2 (Fenwick, 1994).

1.3.1 ASPECTOS DE VIRULENCIA Y DAÑO PULMONAR

Los factores de virulencia son responsables de las reacciones que ocurren durante el proceso de una enfermedad; por lo tanto su estudio permite entender los mecanismos usados por la bacteria para causar la enfermedad (R. Moreno, 2003-4).

Actinobacillus pleuropneumoniae presenta distintos factores de virulencia. Entre ellos se puede citar la cápsula, la pared bacteriana LPS (Lipopolisacárido) y las toxinas (Gottschalk, 2005).

Actinobacillus pleuropneumoniae es altamente específico para el cerdo, probablemente porque el epitelio de la mucosa respiratoria posee receptores para los pili citoadherentes, fimbrias que solo se expresan en el cerdo. La bacteria al ser inhalada se pega por medio de estas estructuras a la mucosa respiratoria y no es eliminada por el pulmón por sus mecanismos de remoción (Gerrlach, 1993).

La virulencia atribuida a la cápsula es variable entre los diferentes serotipos, y aunque es requerida para que un *Actinobacillus pleuropneumoniae* sea virulento, aún no se conoce por completo el papel patogénico de la cápsula, está no tiene actividad toxica o pirógenica, pero si hay actividad blastogénica linfocitaria, así mismo hay resistencia a la fagocitosis por parte de los neutrofilos además de que interfiere con la actividad del complemento hacia la membrana (Gerrlach, 1993).

La bacteria *Actinobacillus pleuropneumoniae* es un microorganismo Gram negativo que se caracterizan por presentar una membrana externa, que estructuralmente es idéntica a la membrana celular o interna, sólo que en la membrana externa o envoltura celular se encuentra localizado el LPS (Gerrlach, 1993).

En esta bacteria se encuentra un antígeno somático denominado “O”, situación que no ocurre con las bacterias del género *Haemophilus*, por lo que el término de LPS no se aplica, pero si el de lipooligosacárido (LOS) (Gerrlach, 1993).

Cuando el LPS de *Actinobacillus pleuropneumoniae* se inócula por vía intradérmica produce una reacción de Shwartzman-Sanarelli, este fenómeno se produce cuando dos dosis de endotoxina son administradas a intervalos de un tiempo corto (en horas) por vía intravenosa, dando lugar a una coagulación intravascular generalizada con necrosis bilateral de la corteza renal que suele ser mortal (Mendoza, 2005); también actúa como un agente pirógeno, induce una infiltración de células inflamatorias cuando se inoculara a ratones y cerdos por vía respiratoria, observándose una neumonía intersticial multifocal y no la neumonía fibrinohemorrágica necrótica clásica de la PCP (Mendoza, 2001).

Garantizada la permanencia de *Actinobacillus pleuropneumoniae* en el pulmón, la bacteria secreta sus exotoxinas (Mendoza, 2001). Las cuales son consideradas como los principales factores de virulencia, responsables de la mayoría de las lesiones pulmonares y tóxicas para los macrófagos alveolares (Gottschalk, 2005).

Se han identificado cuatro tipos de toxinas producidas por *Actinobacillus pleuropneumoniae*, las cuales son llamadas toxinas Apx, que pertenecen a la familia de las toxinas RTX formadoras de poros, y presentan las siguientes características:

- ❖ Apx I: Proteína de 105 kDa, fuertemente hemolítica y fuertemente citotóxica. La producen los serotipos 1, 5a, 5b, 9, 10 y 11 y por lo tanto son los más virulentos.
- ❖ Apx II: Proteína de 103-105 kDa, débilmente hemolítica y débilmente citotóxica, la producen todos los serotipos excepto el 10.
- ❖ Apx III: Proteína de 120 kDa, es no hemolítica y fuertemente citotóxica y la producen los serotipos 2, 3, 4, 6 y 8.
- ❖ Apx IV: recientemente descrita en *Actinobacillus pleuropneumoniae*, tiene actividad citotóxica y la producen todos los serotipos, además de que son específicas del serotipo 6.

La actividad hemolítica de estas proteínas es probablemente la responsable de las lesiones iniciales de la PCP, caracterizadas por ser hemorrágicas y necrosantes. Las toxinas Apx son el principal factor de virulencia y en su ausencia la cepa de *Actinobacillus pleuropneumoniae* es avirulenta (R. Moreno, 2003-4).

1.4 EPIDEMIOLOGIA

Para evitar pérdidas significativas asociadas con estos patógenos necesitamos adquirir conocimientos que nos expliquen lo que pasa dentro de las granjas porcícolas.

FACTORES DE RIESGO DE LA PCP

- ✓ Estos organismos son potencialmente transmitidos por aerosoles (Desrosiers, 2004).
- ✓ El transporte en aerosol de gérmenes patógenos, especialmente durante las tormentas frías y húmedas puede cubrir grandes distancias (varios kilómetros) (Plonait, 2001).
- ✓ La densidad de población porcina de la región se mide en población de porcino por kilómetro cuadrado, cuando el factor de riesgo de una explotación es superior a 50, el peligro de reinfección se considera grande (Plonait, 2001).
- ✓ La situación topográfica de la explotación porcina tiene importancia como factor de riesgo (Plonait, 2001).
- ✓ Sería muy deseable eliminar la fuente de los aerosoles infecciosos, lo cual solamente es posible mediante el saneamiento de grandes áreas, y así evitar reinfecciones. Las medidas que proporcionan la máxima protección, son las que impiden la entrada de agentes patógenos a la explotación.
- ✓ La reducción al máximo de situaciones de riesgo conocido como (compra de animales de explotaciones con infecciones latentes, transporte de animales, movimiento de los mismos) o los riesgos posibles (movimiento de personas, roedores, etc.) (Plonait, 2001).

Optimizar el clima de la nave y si la presión de la infección externa no es demasiado alta, puede evitarse la aparición de una enfermedad respiratoria.

Dentro de la misma explotación porcina tienen importancia para el riesgo de infección y el curso de la enfermedad el respirar aire compartido, tanto por cerdos sensibles como por los ya infectados, además de la densidad de ocupación con respecto al intercambio de aire. La predisposición a la enfermedad aumenta sensiblemente con el frío y la carga de gases nocivos como amoníaco (Plonait, 2001).

1.5 PATOGENIA

La infección es por aerosoles o por contacto directo (Taylor, 1999), en ocasiones por vía indirecta (viento, vestimenta, herramientas, etc.), es posible la introducción de la infección en una granja por el ingreso de animales portadores (Gottschalk, 2005).

El *Actinobacillus pleuropneumoniae* se encuentra principalmente en el tracto respiratorio y en las tonsilas del cerdo.

Las cepas apatógenas de *Actinobacillus pleuropneumoniae* del cerdo también pueden encontrarse en las mucosas de otros animales, sobre todo vacas y ovejas; no existe ningún indicio de que se produzcan infecciones en humanos (Plonait, 2001).

La sobrevivencia del agente en el ambiente es corta, pero si está protegido con una capa de moco puede sobrevivir por algunos días (Vargas, 1994), la transmisión entre piaras (conjunto de cerdos) ocurre por la introducción de cerdos que no han sido expuestos a la enfermedad.

Mezclar animales aumenta el riesgo de contagio, además del estrés, hacinamiento y especialmente, cambios bruscos de temperatura, aunado al exceso de humedad y la mala ventilación son otras causas de una posible epidemia (Straw, 1999; Lara, 2002; Nicolet, 1986).

La intensidad con que pueden irritar las mucosas, así como la colonización de diferentes compartimientos del tracto respiratorio (depende en gran medida de su tamaño, partículas superiores a 5 μm , se depositarán principalmente en la zona de la nariz y la laringe (Plonait, 2001).

Cuando se supera una infección natural se consigue una protección sólida, que probablemente se deba en gran medida a la inmunidad local y en mucha menor medida a la humoral (Plonait, 2001).

1.5.1 CUADRO CLÍNICO Y CURSO

El curso de la enfermedad depende en gran medida de otros gérmenes que pueda haber en la explotación. Cuando aparecen además síntomas clínicos de NE (Neumonía Enzoótica), PRRS (Síndrome Reproductivo y Respiratorio del Cerdo), Aujeszky, gripe, etc. Así el curso de la PCP aparece mucho más grave.

En principio cabe distinguir cuatro cursos distintos de la infección: sobreagudo, agudo, crónico y subclínico (Plonait, 2001).

Cuadro 1, En el se muestra los distintos cursos de infección y los signos que se observan en cada uno de ellos.

Curso Sobreagudo	Curso Agudo	Curso Crónico	Curso Subclínico
Se observa apatía, rechazo del pienso, vómitos, disnea, aumentos de temperatura hasta de 42.5 °C. Según la intensidad de las lesiones pulmonares aparece la tos, silbido pulmonar, cianosis y hemorragias nasales espumosas durante la agonía, con respiración por la boca y síntomas de debilidad cardiocirculatoria. Se produce la muerte en el plazo de 12-24 horas (muerte súbita), dentro de una explotación la enfermedad se difunde rápidamente y a saltos.	Destacan sobre todo disnea, inapetencia, apatía, fiebre hasta 41 °C, y tos intermitente y dolorosa. Sin tratamiento al cabo de pocos días puede producirse la muerte o el paso a un curso crónico. Estos dos primeros cursos son los más frecuentes en las explotaciones de la piara.	En esta forma de enfermedad se observan síntomas apenas característicos. Los hallazgos principales son: Ausencia de fiebre o muy leve, puntas de fiebre, tos, a veces disnea (sobre todo después de moverse). Apetito insuficiente, retrasos en el crecimiento, raquitismo. En este curso se observa también en las explotaciones de cebo o con mayor frecuencia en explotaciones de ciclo cerrado.	En las explotaciones porcícolas con buenas prácticas ambientales, tras una fase aguda corta o una infección latente, puede presentarse este curso sin ningún tipo de síntomas en todos los animales de la explotación.

Cuadro tomado de Plonait y Bickhasdt (27).

1.6 DIAGNÓSTICO

En base a la sintomatología puede establecerse una sospecha de diagnóstico, en el caso de la imagen de la necropsia es característica de esta infección (Plonait, 2001).

Microscópicamente en casos agudos aparecen zonas neumónicas de un color rojo intenso de un diámetro de 1-3 cm., sobre todo localizadas en el lóbulo caudal, que sobresalen de la superficie pulmonar, en estas zonas hay adherencias fibrinosas con la pleura (Plonait, 2001).

En el curso sobreagudo abundan las manchas antes mencionadas, que incluso llegan a confluir, y en la cavidad torácica se encuentra una secreción seroso-hemorrágica. Tras una enfermedad prolongada se produce una pleuritis, y las lesiones pulmonares presentan una superficie de corte de color gris rojizo o gris blanquecino con un centro necrótico (secuestros pulmonares) (Plonait, 2001).

Cuando se presenta una complicación poco frecuente en forma de artritis y endocarditis valvular así como septicemia en el caso de los lechones lactantes. El diagnóstico, además de basarse en la identificación de las correspondientes lesiones pulmonares (en los animales fallecidos, sacrificados, o los cerdos del matadero) se puede reforzar con:

- ✓ Aislamiento e identificación mediante cultivo (lo que en cursos agudos y en cerdos sin tratar es bastante difícil).
- ✓ Análisis serológico, de sangre (Kit de ELISA, KBR compañía Alemana)¹ y calostro (ELISA). Este es el método de elección en los cursos crónico y subclínico.

¹ La técnica de Elisa es un procedimiento de ensayo inmunoenzimático cuyo nombre resulta de la asociación de las iniciales de su denominación inglesa (enzyme linked immuno sorbent assay). Como todo ensayo inmunoenzimático, la prueba recurre al empleo de inmunógenos, haptenos ó anticuerpos marcados con una enzima, para revelar el reactivo complementario a nivel de distintos fluidos biológicos.

Fue concebida independientemente en 1971 en Suecia y Holanda, siendo aplicada posteriormente a la revelación y a la cuantificación de los más diversos tipos de sustancias presentes en líquidos orgánicos (antígenos, anticuerpos, hormonas, fármacos, etc.).

El área de sus aplicaciones médicas se ha expandido en forma sostenida, siendo utilizada como el primer sustituto de la técnica de Radioinmunoensayo* en la medición de hormonas, inmunoglobulinas, antígenos y anticuerpos en infecciones bacterianas, micóticas, parasitarias o viróticas.

De un modo general se procede a la fijación de uno de los componentes de la reacción inmunológica (antígeno Ag o anticuerpo Ac) a un soporte sólido, poniendo luego ese sistema en contacto con una fase fluida que contiene el reactivo complementario. El complejo inmunológico formado es enfrentado luego a las moléculas capaces de reconocer a su componente más superficial, marcadas con una enzima (peroxidasa de rábano picante); agregándose posteriormente un sustrato cromogénico de la enzima marcadora. La existencia de una reacción inmunológica se demuestra y se cuantifica midiendo espectrofotométricamente la cantidad de producto enzimático resultante (labgeminis.com).

Tras un brote agudo hay que pensar en un diagnóstico diferencial de otras formas sobreagudas de neumonía, como la gripe porcina, así como en la microangiopatía o en otras enfermedades cardiocirculatorias graves. El curso crónico y subclínico no se pueden distinguir de una EP² (Plonait, 2001).

1.6.1 AISLAMIENTO Y TIPIFICACIÓN DE *Actinobacillus pleuropneumoniae* A PARTIR DE PULMONES DE CERDOS.

Para la tipificación los métodos serológicos son los más adecuados ya que se pueden realizar en los animales vivos con o sin signos clínicos, no requieren del sacrificio de los cerdos, son más rápidos y permiten hacer perfiles de la enfermedad, identificando el punto de infección de la granja. Para el diagnóstico serológico de PCP³ se pueden mencionar las siguientes pruebas: aglutinación, aglutinación indirecta, fijación de complemento, prueba de ELISA y NEUMOTEST (Torres, 1995).

Los extractos antigénicos pueden ser identificados y serotipificados en tejido pulmonar por pruebas de coagulación en extractos, inmunofluorescencia indirecta e inmunoperoxidasa en tejido y el DNA puede ser identificado por PCR simple o múltiple (Taylor, 1999).

Las afecciones crónicas en cerdos contagiados pueden ser identificadas obteniendo lavados tonsilares (o enjuagues tonsilares) y cultivando o por la presencia de anticuerpos en saliva, secreciones nasales, calostro, jugo de carne o más usualmente suero (Taylor, 1999).

Los anticuerpos pueden identificarse mediante ELISA con antígenos capsulares, por fijación de Complemento, radioinmunoensayo, aglutinación en látex y aglutinación en tubo con 2-mercaptoetanol (Taylor, 1999).

² EP = Neumonía enzoótica. / ³ PCP = Pleuroneumonía Contagiosa Porcina.

1.7 TRATAMIENTO

Para que el tratamiento a administrar sea eficaz debe instaurarse desde el principio de la enfermedad, apenas aparezcan los signos clínicos. Se debe de contar con el resultado del antibiograma para asegurar una buena respuesta clínica. El uso de antimicrobianos puede reducir la mortalidad y las lesiones, pero no impide la infección, ya que los animales quedan como portadores (Gottschalk, 2005).

El tratamiento debe realizarse por vía parenteral, ya que se ha demostrado que los animales enfermos comen y beben menos, y la vía oral puede utilizarse para prevenir la aparición de nuevos casos clínicos.

Es importante identificar (marcar) los animales tratados, para poder verificar que esos animales no continúan presentando signos clínicos, lo que indicaría una probable resistencia bacteriana al producto utilizado (Gottschalk, 2005).

Niveles terapéuticos apropiados de antimicrobianos pueden prevenir la enfermedad, los antimicrobianos que pueden usarse son la penicilina, cefalexina, ampicilina, amoxicilina, oxitetraciclina, doxyciclina, trimetoprima con sulfametoxazol, tiamulina, florfenicol y cloranfenicol (Gottschalk, 2005).

Recientemente se han usado el enrofloxacin 5 mg/Kg, ceftiofur de 3-5 mg/Kg y lincospectina 5 mg/Kg (Gottschalk, 2005).

El tratamiento parenteral debe repetirse durante tres días a cerdos afectados, se les debe administrar con agua por medio de sonda o tubo (Taylor, 1999).

Finalmente en las granjas donde aparece un brote agudo, es importante aumentar la entrada de aire (ventilación), de la misma forma si la temperatura disminuye (Gottschalk, 2005).

Los tratamientos dirigidos al control de *Actinobacillus pleuropneumoniae* dependerán de diversos factores como: dosis, sensibilidad del microorganismo y sobre todo el momento en que sean aplicados (Olander, 1963).

1.8 INMUNIZACIÓN

La inmunización contra los patógenos que requieren de interacciones con otros microorganismos y/o de la contribución de factores de estrés, es difícil. Es por ello que los investigadores de las nuevas vacunas siempre deben estar advertidos de la manera, como el sistema inmune del cerdo interactúa con las partes del microorganismo patógeno, conocidas como antígenos, que estimulan la respuesta inmune (Tomas M, 2002).

La inmunidad adquirida es la protección que el cerdo genera durante su vida, se puede adquirir ya sea pasiva o activamente, un cerdo recién nacido depende particularmente de la inmunidad pasiva, ya que nace sin inmunidad y debe adquirirla mamando el calostro lo más pronto posible después de nacido (Thomas M, 2002).

La inmunidad pasiva puede ser inyectada o administrada oralmente en la forma de suero hiperinmune obtenido de un cerdo que se ha recuperado de la enfermedad, o que ha sido inmunizado más de una vez y por ello, tiene una alta concentración de anticuerpos en su organismo. La inmunidad pasiva no hace que el sistema inmune cree células capaces de recordar al antígeno, posteriormente (Thomas M, 2002).

La inmunidad activa se crea cuando el cerdo se recupera de la infección natural o se expone artificialmente al agente infeccioso mediante una vacunación.

❖ Las vacunas tienen dos objetivos:

1. No causar la enfermedad (seguridad).
2. Proteger con efectividad al cerdo contra la enfermedad causada por el agente infeccioso, estimulando al sistema inmune del cerdo (Thomas M, 2002).

Los microorganismos que invaden al cerdo a través de las superficies mucosas por lo general requieren de una vacuna administrada a través de mucosas (vía oral), o por vía intramuscular.

Otra forma de vacunar a los cerdos es la vía intraperitoneal, que consiste en la inyección de la vacuna directamente en la cavidad abdominal, esta inmunización permite inyectar el antígeno vacunal cerca del sitio de la infección. En lechones recién nacidos, los anticuerpos circulantes, evitan que el animal desarrolle su propia inmunidad activa, esta es la principal razón por la que los programas de vacunación a menudo no son efectivos en los cerdos recién nacidos. Además no todos los lechones responden a la vacunación de la misma forma (Thomas M, 2002).

A medida que los cerdos se van exponiendo a los antígenos que se encuentran en el ambiente que los rodea, su sistema inmune madura y comienza a producir células inmunes que los ayudan a atacar las enfermedades (Thomas M, 2002).

La edad adecuada para inmunizar a un cerdo joven es después de que haya desaparecido la inmunidad pasiva obtenida por su madre (4-12 semanas de edad) y cuando su propio sistema inmunológico haya madurado lo suficiente como para responder al antígeno vacunal, creando suficiente protección para mantener al animal sano bajo circunstancias normales (Thomas M, 2002).

La mayoría de los programas de inmunización requieren una primera exposición para estimular la inmunidad (respuesta primaria) y una segunda exposición para generar una sólida respuesta, que sea suficiente para proteger al cerdo contra la enfermedad. Esta protección tiene una cierta duración. Para dar tiempo a que las células inmunes respondan a un antígeno, es necesario esperar cuando menos dos semanas y preferentemente 3; antes de administrar la segunda inmunización (Thomas M, 2002).

Los refuerzos deben ser administrados cada 3 y 5 años para la forma oral y parenteral respectivamente (Darwich, 1999).

Si no hay una inmunidad mediada por células efectivas, estos microorganismos sobrevivientes pueden multiplicarse hasta el punto en que nuevamente se produce la bacteremia y los síntomas (Schaechter, 1994).

❖ Un programa de vacunación para PCP se aplica de la siguiente manera:

- 1) Inmunización básica única de todos los animales reproductores en forma oral o parenteral.
- 2) Inmunización de las hembras madres o dos veces antes del parto, por vía oral o parenteral en combinación con otras aplicaciones suministradas como vacuna viva, por ejemplo vacuna viva contra disentería de los lechones lactantes.
- 3) Inmunización única de todos los cerdos jóvenes al ser ingresados en el plantel de engorda ya sea por vía oral o parenteral en combinación con otras aplicaciones suministradas en el período de mantenimiento como vacuna viva. Este programa comienza desde la existencia de la inmunización individual de cada grupo animal a fin de prevenir enfermedades clínicas, alteraciones y pérdidas en la producción, lo cual tiende a un saneamiento efectivo (Thomas M, 2002).

4) En los cerdos las vacunas altamente sensibles a las endotoxinas no toleran en todos los casos las reacciones anafilácticas de incompatibilidad que se pueden presentar después de una aplicación parenteral con otros preparados (W. Scöll, 1994).

1.9 VACUNACIÓN

El control de esta infección se hace más complicado ya que el microorganismo permanece latente dentro del hato en ganglios y tonsilas además de que existen diferencias de patogenicidad entre los serotipos existentes.

El tiempo más apropiado para la vacunación puede ser identificado por monitoreo serológico de los anticuerpos para producir un perfil, estos perfiles pueden variar o cambiar de estructura a estructura en la misma granja, la vacunación previa a la entrada de la unidad final puede ser particularmente efectiva (Taylor, 1999).

Comúnmente las vacunas son hechas a partir de cultivos extracelulares bacterianos muertos o atenuados, conteniendo 4 serotipos escogidos los cuales representan a los existentes en el hato o país (Taylor, 1999).

La vacuna disponible desde 1995 es la UK (Suvaxyn HPP, Solvay Puphar) contiene serotipos 3, 6, y 8, de *Actinobacillus pleuropneumoniae*, es administrada en dos inyecciones, por dos semanas para animales no preñados, después de los 6 meses de edad (Taylor, 1999).

Los programas de vacunación usados confieren protección pasiva subsecuentemente a la vacunación de los cerdos. Cuando la inmunidad pasiva se presenta (en cerdas vacunadas o por infección enzootica) los mejores resultados son obtenidos al vacunar a los lechones después de desaparecer la inmunidad maternal. Esto usualmente ocurre de 4 y 12 semanas de edad y previenen la infección dando la primera inyección en esta etapa (Taylor, 1999).

Estudios experimentales demostraron que un número elevado de antígenos de *Actinobacillus pleuropneumoniae* protegen contra de la enfermedad en algún grado y en combinación de las toxinas ApxI, ApxII, ApxIII y la proteína de 42KD de la membrana externa protege contra otros serotipos (Taylor, 1999).

La problemática de la enfermedad ha llevado a generar vacunas subunitarias con toxinas y proteínas externas de membrana denominadas Apx I + OMP y ApxL-ApxIII-OMP (Mendoza, 2001).

Las experiencias con este tipo de vacunas han sido favorables sin embargo la posibilidad de eliminar completamente a los animales portadores vacunados aun no queda excluida.

Actualmente se está trabajando con una vacuna viva de *Actinobacillus pleuropneumoniae* serotipo 7 (HS93C-A+) con una mutación en el sitio Apx IIC y capacidad de excretar la toxina pero sin que esta se fije a las células blanco, la vacunación es intranasal con 1.0×10^9 UFC/ml en dos dosis (Prideaux C. CSIRO Australia), asimismo existe la cepa 4074-estreptomicina dependiente del laboratorio del Dr. Fenwick en Kansas utilizada como vacuna en otros estudios (Mendoza, 2001).

La única alternativa al uso de alimentos medicados para combatir la PCP es un programa eficiente de vacunación. Las vacunas actualmente disponibles en el mercado no permiten una protección total (Plonait, 2001).

Nuevos estudios han demostrado que existen diversos factores, como antígenos de cápsula, lipopolisacáridos, proteínas externas de membrana, hemolisina y citolisina, que son responsables de la virulencia del agente patógeno (Plonait, 2001).

La elaboración de diferentes vacunas basadas en estos factores de virulencia permite abrigar la esperanza de que se pueda obtener no solamente una inmunidad humoral como la que se consigue hasta ahora con las vacunas que hay en el mercado, sino sobre todo una inmunidad local contra diversos gérmenes (Plonait, 2001).

Se han obtenido éxitos esperanzadores con una vacuna «outer membrane» (proteína de la membrana externa) contra la infección con serotipos homólogos. Sin embargo, el costo de esta vacuna es alto y por el momento no está disponible para su uso comercial (Plonait, 2001).

También se han descrito vacunas en aerosol. Los animales vacunados de esta manera presentan una buena protección clínica, muchas menos lesiones pulmonares comparadas con el grupo control y una respuesta inmunitaria tanto local como general. Sin embargo, el vacuna en aerosol todavía no está suficientemente desarrollada para su aplicación práctica (Plonait, 2001).

Los programas vacunales en conjunto se consideran costosos y no siempre proporcionan la protección deseada (Plonait, 2001).

La inmunidad inducida por la vacunación es claramente menos sólida que la que se produce como resultado de superar una infección natural. (Plonait, 2001)

1.10 TERAPIA Y PROFILAXIS

Animales enfermos han de ser tratados individualmente por vía parenteral.

Normalmente responden bien a una terapia. El medio de elección sigue siendo la penicilina a dosis de 20.000 UI/Kg PV, durante 3 días (Plonait, 2001).

Cuando aparece un brote de la enfermedad está indicada la utilización de alimento medicado medicado, se ha demostrado utilidad de una combinación de clortetraciclina/trimetropim con penetamato y/o tiamulina. Pero estos programas de saneamiento no se han aplicado a infecciones clínicamente manifestas con PCP. En la mayoría de los casos sin embargo, tras intentos de erradicación de PCP puramente medicamentosos, al cabo de poco tiempo se han producido nuevos brotes agudos (Plonait, 2001).

Para reducir las pérdidas económicas de las explotaciones porcícolas infectadas con PCP de momento, solamente se puede recurrir al uso regular de medicamentos con fines profilácticos y terapéuticos, a veces combinado con programa de vacunación (Plonait, 2001).

1.11 ERRADICACIÓN

Piarras que están libres de infección por *Actinobacillus pleuropneumoniae* pueden ser mantenidos así mediante aislamiento. Estos forman fuentes libres de enfermedad comúnmente pueden emplearse para repoblación (Taylor, 1999).

La despoblación de granjas, limpieza, desinfección y repoblación con animales libres de enfermedad puede acabar con el problema (Taylor, 1999).

Los tratamientos antimicrobianos no han sido exitosos en la erradicación pero combinados con la vacunación, despoblación parcial y traslado de portadores serológicos y tonsilares son un éxito.

El tratamiento de hatos con enrofloxacin por medio de respiraderos y aspiraciones se encontró como un método adecuado para erradicar la infección (Taylor, 1999).

La medida ideal para la erradicación total de la PCP sería un saneamiento completo, pero solamente tiene sentido hacerlo en un ámbito regional cubriendo todas las explotaciones de área concreta (Plonait, 2001).

1.12 NEUMOTEST

La problemática acerca de la PCP expuesta anteriormente, motivó a Ciprián y cols. (4) a desarrollar un paquete tecnológico con el fin de elaborar a nivel industrial equipos de diagnóstico serológico para la PCP, empleando tecnología sencilla y de bajo costo.

Con la utilización de éstos equipos se podrá conocer el “*status immune*” de la granja respecto a la enfermedad y poder así establecer las medidas de control necesarias. El equipo de diagnóstico fue denominado NEUMOTEST, es una prueba de aglutinación en placa, diseñada para la identificación directa de los anticuerpos capsulares de *Actinobacillus pleuropneumoniae* contenidos en el suero del cerdo de cualquier edad mediante un simple ensayo de aglutinación en placa que se realiza en unos minutos (Mendoza, 2001).

1.13 EXPLICACIÓN DEL PORQUE SE REALIZA LA PRUEBA NEUMOTEST

Los cerdos infectados con *Actinobacillus pleuropneumoniae* desarrollan PCP, estos animales mueren o llegan a recuperarse. En los pulmones de los cerdos que llegan a sobrevivir perduran las lesiones crónicas o “secuestros” que permanecen durante toda la vida del animal y se consideran como portadores asintomáticos. Si un cerdo sufre PCP y es portador asintomático produce anticuerpos propios de la enfermedad. Por el contrario, si un cerdo es vacunado contra PCP y no ha estado en contacto con *Actinobacillus pleuropneumoniae* desarrolla una clase de anticuerpos propios de la vacunación (Torres, 1995).

NEUMOTEST esta diseñado para el diagnóstico *in vitro*, ofrece la oportunidad de distinguir directamente en las granjas porcícolas, si un cerdo ha sido infectado con *Actinobacillus pleuropneumoniae* de campo y por lo tanto es portador de la PCP o si el cerdo está sano, esté o no vacunado contra PCP (Torres, 1995).

1.14 PRINCIPIOS DEL PROCEDIMIENTO

La prueba de NEUMOTEST se basa en el principio de aglutinación directa. El suero del cerdo a evaluar es mezclado con el reactivo que contiene células completas de *Actinobacillus pleuropneumoniae* teñido.

En el caso de un cerdo infectado con PCP el suero contiene anticuerpos específicos que reaccionan con los antígenos presentes en el reactivo, produciendo una aglutinación caracterizada por la aparición de aglutinación en la mezcla, indicando un resultado positivo.

En un cerdo sano el suero normalmente no contiene anticuerpos contra *Actinobacillus pleuropneumoniae*, si se tratará de un cerdo vacunado contra la PCP el suero contiene anticuerpos específicos contra el inmunógeno que no reaccionan con el antígeno empleado para la elaboración del NEUMOTEST, de tal forma que la aglutinación no se produce indicando resultado negativo (Torres, 1995).

1.15 JUSTIFICACIÓN DEL PROYECTO DE TESIS

El *Actinobacillus pleuropneumoniae* esta considerado como el segundo agente bacteriano más importante causante de enfermedades en cerdos, por lo que se requiere de un diagnóstico integral, certero y veraz, capaz de proporcionar la información necesaria y suficiente para el control y/o erradicación de la enfermedad.

Recordando solo que cuando se presenta un brote de PCP, el productor solo tiene dos opciones:

- 1) Convivir con la enfermedad, minimizando el impacto económico en el desarrollo del hato.

- 2) Tener un hato libre de *Actinobacillus pleuropneumoniae*.

Lo cual nos lleva a corroborar que la prevención es la mejor herramienta con la que se cuenta.

Se propone el uso de la bacterina en cerdos desafiados con todos los serotipos de *Actinobacillus pleuropneumoniae*, a diferentes dosis, para seleccionar la más efectiva y por medio de la técnica serológica NEUMOTEST, comprobar la formación de anticuerpos contra la bacteria y corroborar la efectividad de la vacuna, la dosis adecuada y especificidad hacía algún serotipo en particular.

Debido al elevado costo de los tratamientos, y a la rapidez con que progresa la enfermedad, es necesario implementar nuevos métodos de inmunización, efectivos para el control de PCP, la vacuna comercial que se emplea a lo largo del experimento está conformada con una cepa (bacterina) de *Actinobacillus pleuropneumoniae*, cuyo objetivo es combatir a la enfermedad y si es posible prevenirla.

1.16 HIPÓTESIS

Si los cerdos vacunados y posteriormente desafiados con una cepa de *Actinobacillus pleuropneumoniae*, desarrollan una respuesta inmunológica de anticuerpos, entonces, por medio de la prueba serológica específica NEUMOTEST, podrá determinarse la inmunogenicidad de la vacuna.

2. OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GENERAL

Determinar mediante la técnica serológica NEUMOTEST la inmunogenicidad de una bacterina comercial de *Actinobacillus pleuropneumoniae* en cerdos.

2.2 OBJETIVOS PARTICULARES

- 1) Evaluación de una bacterina mediante desafío de cerdos contra *Actinobacillus pleuropneumoniae*.
- 2) Evaluación de la respuesta inmunogénica por medio de la técnica NEUMOTEST, en vacunas reciente y de estabilidad.
- 3) Determinar si la bacterina de lote reciente como de estabilidad, posee especificidad hacia algún serotipo en particular basados en la inmunogenicidad producida.

3. MATERIAL Y MÉTODOS

3.1. Animales

Se usaron 90 lechones machos de dos meses de edad, peso de 12.0 a 15.0 Kg. provenientes de granjas libres de PCP, PRRS, *Pasteurella multocida* y virus de la enfermedad de Aujeszky.

Agrupados en 6 unidades de 15 animales cada uno, por serotipo 1, 2, 3, 4, 5 y 7, nombrados en unidades del 1 al 6.

3.2. Biológicos

*Serotipos de *Actinobacillus pleuropneumoniae*, obtenidos del laboratorio:

Serotipo 1 / Cepa Shope 4074, serotipo 2 / cepa 4226, serotipo 3 / cepa 1421, serotipo 4 / cepa M62, serotipo 5 / cepa K17, serotipo 7 / cepa WF83.

Desafío: Todos los cerdos fueron desafiados con 10^6 UFC/ml en una cámara de nebulización durante 15 minutos, con cada uno de los serotipos.

*Se utilizó vacuna de lote reciente y 1 año de vida de anaquel.

3.3. Inmunización

Los animales del grupo A se inmunizaron con 1 dosis (2 ml), el grupo B está formado por cerdos sin vacuna (grupo control) y el grupo C es el de estabilidad (la vacuna que se empleó en este grupo tenía 1 año de vida de anaquel), la bacterina fue administrada por vía intramuscular (I.M.).

3.4 Sangrados

A los cerdos se les realizaron 5 sangrados semanalmente, las muestras se obtuvieron directamente de la vena principal (yugular) y fueron procesadas para obtener el suero, al cual se le realizara posteriormente la Prueba de NEUMOTEST.

El origen, registro y todo lo concerniente a la preparación del Kit, son propiedad de la UNAM (Unidad de Posgrado, del Departamento de Virología), este laboratorio proporciono los kits con los que se realizó el experimento, la bacterina utilizada permanece en etapa de investigación y fue proporcionada también por el laboratorio de Virología.

3.4.1 Distribución de cerdos y administración de Bacterina

De la tabla 1 a la tabla 6 podemos observar la manera en la que se distribuyeron los cerdos, estos se colocaron en 6 unidades conteniendo cada una de ellas 15 cerdos, estos a su vez se subdividieron de 5 en 5 a los cuales se les administraron 2 ml de la dosis de bacterina reciente, 2 ml de la dosis de estabilidad y se dejó a un subgrupo como control (sin bacterina).

Cada unidad fue desafiada de manera individual con un serotipo diferente de *Actinobacillus pleuropneumoniae* y al final del experimento todos los cerdos fueron desafiados con todos los serotipos.

Cuadro 2. Distribución de cerdos y dosificación de bacterina en grupos A y C.

SEROTIPO 1 / UNIDAD 1

GRUPO	A	B	C
DOSIS / ANIMAL	1 DOSIS RECIENTE	SIN VACUNA (CONTROL)	ESTABILIDAD (1 AÑO)
(2 ml)	1	6	11
(2 ml)	2	7	12
(2 ml)	3	8	13
(2 ml)	4	9	14
(2 ml)	5	10	15

Cuadro 3. Distribución de cerdos y dosificación de bacterina en grupos A y C.

SEROTIPO 2 / UNIDAD 2

GRUPO	A	B	C
DOSIS / ANIMAL	1 DOSIS RECIENTE	SIN VACUNA (CONTROL)	ESTABILIDAD (1 AÑO)
(2 ml)	16	21	26
(2 ml)	17	22	27
(2 ml)	18	23	28
(2 ml)	19	24	29
(2 ml)	20	25	30

Cuadro 4. Distribución de cerdos y dosificación de bacterina en grupos A y C.

SEROTIPO 3 / UNIDAD 3

GRUPO	A	B	C
DOSIS / ANIMAL	1 DOSIS RECIENTE	SIN VACUNA (CONTROL)	ESTABILIDAD (1 AÑO)
(2 ml)	31	36	41
(2 ml)	32	37	42
(2 ml)	33	38	43
(2 ml)	34	39	44
(2 ml)	35	40	45

Cuadro 5. Distribución de cerdos y dosificación de bacterina en grupos A y C.

SEROTIPO 4 / UNIDAD 4

GRUPO	A	B	C
DOSIS / ANIMAL	1 DOSIS RECIENTE	SIN VACUNA (CONTROL)	ESTABILIDAD (1 AÑO)
(2 ml)	46	51	56
(2 ml)	47	52	57
(2 ml)	48	53	58
(2 ml)	49	54	59
(2 ml)	50	55	60

Cuadro 6. Distribución de cerdos y dosificación de bacterina en grupos A y C.

SEROTIPO 5 / UNIDAD 5

GRUPO	A	B	C
DOSIS / ANIMAL	1 DOSIS RECIENTE	SIN VACUNA (CONTROL)	ESTABILIDAD (1 AÑO)
(2 ml)	61	66	71
(2 ml)	62	67	72
(2 ml)	63	68	73
(2 ml)	64	69	74
(2 ml)	65	70	75

Cuadro 7. Distribución de cerdos y dosificación de bacterina en grupos A y C.

SEROTIPO 7 / UNIDAD 6

GRUPO	A	B	C
DOSIS / ANIMAL	1 DOSIS RECIENTE	SIN VACUNA (CONTROL)	ESTABILIDAD (1 AÑO)
(2 ml)	76	81	86
(2 ml)	77	82	87
(2 ml)	78	83	88
(2 ml)	79	84	89
(2 ml)	80	85	90

3.5 Vacunación

La Bacterina utilizada fue comercial, la cual contiene todos los serotipos. 1, 2, 3, 4, 5 y 7 de *Actinobacillus pleuropneumoniae*.

Las dosis de inóculo fue de 2 ml como lo marca el Prontuario de Especialidades Veterinarias (44) para todos los biológicos contra PCP. En su administración, todos ellos manejan la dosis de 2 ml I.M. o subcutánea en cerdos que pesen hasta 25 Kg., este peso es el límite, los cerdos con los que se experimento iniciaron con pesos que variaban entre 12.0 y 15.0 Kg. (44)

En base a esto se tomo como parámetro esta dosis de 2 ml (1 Dosis), el propósito fue determinar la respuesta que la bacterina producía a los cerdos al ser desafiados y si confería protección contra algún serotipo en particular

3.5.1 Evaluación serológica.

Los sueros se evaluaron por la técnica de aglutinación NEUMOTEST App® con los serotipos 1 y 3 ya que son los de mayor interés debido a la alta patogenicidad que poseen.

3.6 NEUMOTEST

El suero del cerdo a diagnosticar es mezclado apropiadamente con el reactivo que contiene células tratadas de *Actinobacillus pleuropneumoniae*.

Esta prueba se efectúa en máximo 10 minutos.

- a) El reactivo se dejó equilibrar a temperatura ambiente (12-25 ° C) durante 10-15 minutos.
- b) Con una pipeta aplicadora se colocó una gota del suero a analizar en cada una de las cuatro celdas en la línea asignada a cada cerdo en la placa.
- c) Se colocó una gota del reactivo de aglutinación del serotipo a identificar en la celda que contiene la gota del suero y se mezcló con un movimiento rotatorio utilizando un palillo mezclador para cada celda.
- d) La placa se agitó suavemente con movimientos ondulatorios durante 4 minutos y se efectuó la lectura.

La reacción de aglutinación es muy estable, pero se recomienda que las lecturas se lleven a cabo dentro de los 2 primeros minutos después de realizada la prueba. Los sueros de los cerdos infectados con *Actinobacillus pleuropneumoniae* de campo, mostrarán fuerte aglutinación, mientras que los sueros de los cerdos sanos y los vacunados contra PCP (al menos durante las primeras tres semanas) permanecerán sin aglutinación.

4. RESULTADOS DE NEUMOTEST

Tabla 1. Indica las fechas en las que se realizaron los sangrados y los resultados obtenidos mediante la prueba en los grupos A y C, así como el comportamiento del grupo B a lo largo del experimento.

SEROTIPO 1 / UNIDAD 1

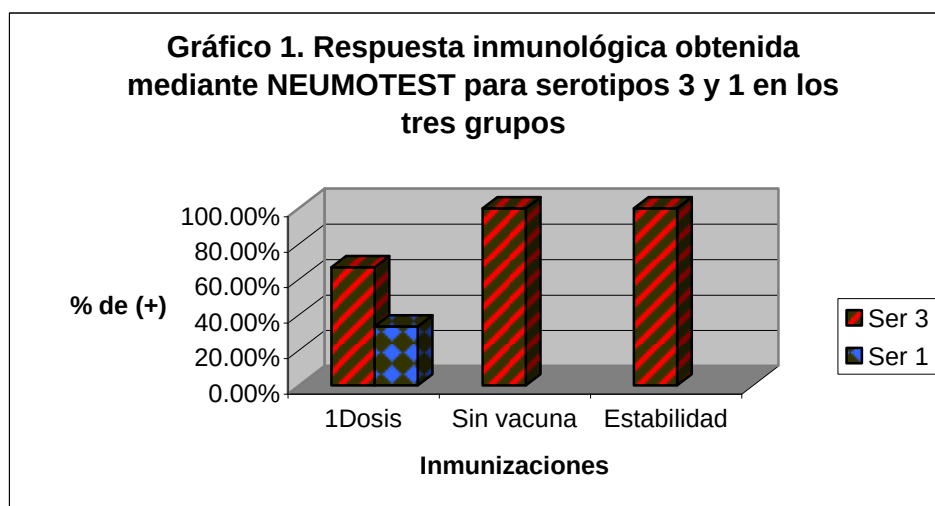
GRUPO	A				B				C			
	1 DOSIS				SIN VACUNA				ESTABILIDAD			
FECHA	E 22	F 5	F 19	F 21 / 22	E 22	F 5	F 19	F 21 / 22	E 22	F 5	F 19	F 21 / 22
CERDO												
1												
2												
3												
4												
5												
6												
7												
8												
9												
10												
11												
12												
13												
14												
15												

En la tabla 1 se observan tres grupos: el A al que le corresponde 1 dosis (2ml de bacterina reciente), el grupo B, el cual es el grupo control y el grupo C al cual se le administraron también 2 ml de bacterina pero de 1 año de vida de anaquel, así como las fechas en las que se realizaron los sangrados).

-  (+) a serotipo 1
-  (+) a serotipo 3

Fechas:
E= Enero 22
F= Febrero 5, 19, 21, 22.

El serotipo que tuvo mayores resultados positivos fue el serotipo 3, que contó con 21 sueros positivos; 6 pertenecientes a 1 dosis, 8 de los cerdos control y 7 pertenecientes a la bacterina de estabilidad, en tanto que el serotipo 1 solo contó con 3 sueros positivos pertenecientes a 1 dosis. En la tabla 1, el cerdo 13 no mostró presencia de anticuerpos contra ninguno de estos serotipos.



El gráfico 1 muestra el porcentaje de positividad de las tres dosis para ambos serotipos. En la cual para 1 dosis tenemos 66.66% (+) para serotipo 3 y 33.33% (+) para serotipo 1, para los cerdos del grupo control así como para los cerdos pertenecientes al subgrupo de estabilidad contamos con un 100% de (+) a serotipo 3 en ambos casos. Comparando la producción de anticuerpos de ambos serotipos, en esta unidad predominó la formación de anticuerpos contra el serotipo 3.

Tabla 2. Indica las fechas en las que se realizaron los sangrados y los resultados obtenidos mediante la prueba en los grupos A y C, así como el comportamiento del grupo B a lo largo del experimento.

SEROTIPO 2 / UNIDAD 2

GRUPO	A				B				C			
	1 DOSIS				SIN VACUNA				ESTABILIDAD			
FECHA	E 22	F 5	F 19	F 21 / 22	E 22	F 5	F 19	F 21 / 22	E 22	F 5	F 19	F 21 / 22
CERDO												
16												
17												
18												
19												
20												
21												
22												
23												
24												
25												
26												
27												
28												
29												
30												

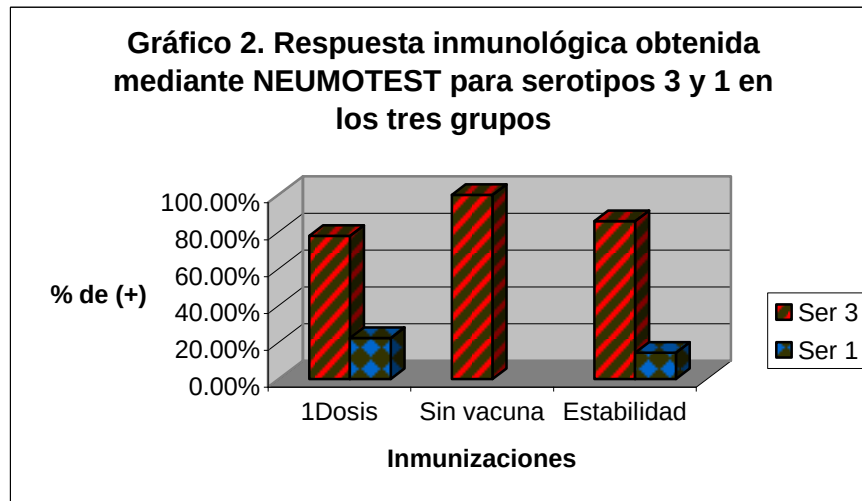
En la tabla 2 predomino la formación de anticuerpos contra el serotipo 3 como lo indican los resultados obtenidos.

El serotipo que tuvo mayores resultados positivos fue el serotipo 3, que contó con 22 sueros positivos; 7 pertenecientes a 1 dosis, 9 al subgrupo control y 6 pertenecientes a la bacterina de estabilidad en tanto que el serotipo 1 contó con 3 sueros positivos 2 de ellos pertenecientes a 1 dosis y 1 al subgrupo de estabilidad.

Los cerdos 24 y 26 no mostraron presencia de anticuerpos contra ninguno de estos serotipos.

- (+) a serotipo 1
- (+) a serotipo 3

Fechas:
E= Enero 22
F= Febrero 5, 19, 21, 22.



El gráfico 2 muestra el porcentaje de positividad de las tres dosis que se manejaron durante todo el experimento, como en la gráfica 1, en esta también notamos que predominó la formación de anticuerpos contra el serotipo 3.

En la cual para 1 dosis tenemos 77.77% (+) para serotipo 3 y 22.22% (+) para serotipo 1, para los cerdos del grupo control tenemos 100% de (+) para serotipo 3 y para la bacterina de estabilidad se tiene un 85.71% (+) para serotipo 3 y 14.28% (+) para serotipo 1.

Tabla 3. Indica las fechas en las que se realizaron los sangrados y los resultados obtenidos mediante la prueba en los grupos A y C, así como el comportamiento del grupo B a lo largo del experimento.

SEROTIPO 3 / UNIDAD 3

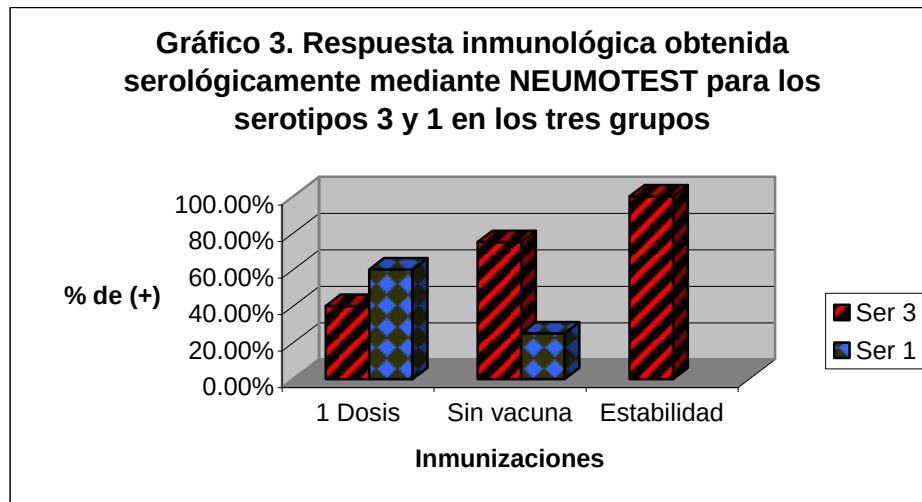
GRUPO	A				B				C			
	1 DOSIS				SIN VACUNA				ESTABILIDAD			
FECHA	E 22	F 5	F 19	F 21 / 22	E 22	F 5	F 19	F 21 / 22	E 22	F 5	F 19	F 21 / 22
CERDO												
31												
32												
33												
34												
35												
36												
37												
38												
39												
40												
41												
42												
43												
44												
45												

La tabla 3 muestra los resultados obtenidos para la unidad 3 al realizar la prueba de Neumotest.

El serotipo que tuvo mayores resultados positivos fue el serotipo 3, que contó con 20 sueros positivos; 4 pertenecientes a 1 dosis, 6 al subgrupo control y 10 pertenecientes a la bacterina de estabilidad en tanto que el serotipo 1 contó con 8 sueros positivos 6 pertenecientes a 1 dosis y 2 al subgrupo de estabilidad. Aunque en esta tabla se incrementa el número de sueros positivos contra el serotipo 1, el número mayor de sueros positivos sigue siendo para el serotipo 3, como en las dos anteriores este es el que predomina.

- (+) a serotipo 1
- (+) a serotipo 3

Fechas:
E= Enero 22
F= Febrero 5, 19, 21, 22.



El gráfico 3 muestra el porcentaje de positividad de las tres dosis para ambos serotipos

En la cual para 1 dosis tenemos 40% (+) para serotipo 3 y 60% (+) para serotipo 1, para los cerdos del grupo control tenemos 75% (+) para serotipo 3 y 25% (+) para serotipo 1, en cuanto a el grupo de estabilidad tenemos 36.36% (+) para serotipo 3 y 63.63% (+) para serotipo 1.

En esta unidad en general predominó la formación de anticuerpos contra el serotipo 3, aunque también se observó un incremento en la formación de anticuerpos contra el serotipo 1, siendo mayor el porcentaje obtenido de este en el grupo de 1 dosis, sin embargo los dos subgrupos restantes (control y estabilidad) mantienen el comportamiento que predominó en las dos unidades anteriores en las cuales el serotipo 3 mantiene los porcentajes más elevados de anticuerpos.

Tabla 4. Indica las fechas en las que se realizaron los sangrados y los resultados obtenidos mediante la prueba en los grupos A y C, así como el comportamiento del grupo B a lo largo del experimento.

SEROTIPO 4 / UNIDAD 4

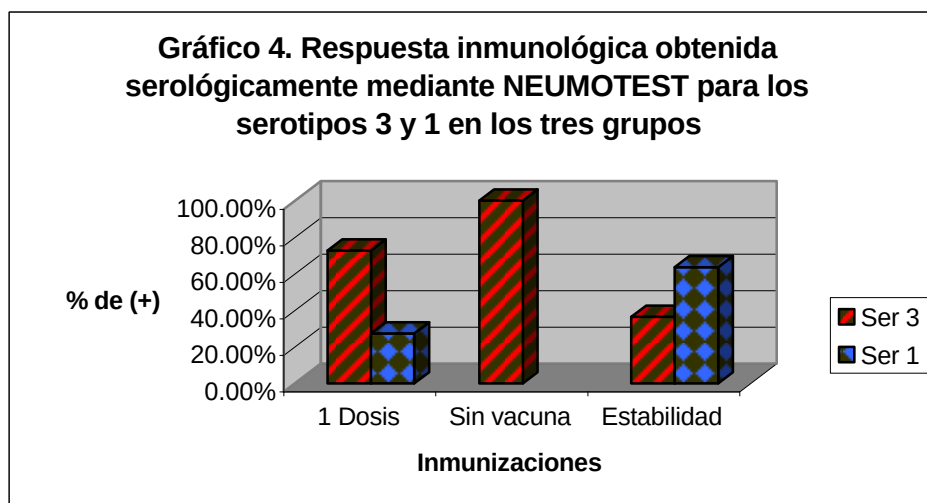
GRUPO	A				B				C			
	1 DOSIS				SIN VACUNA				ESTABILIDAD			
FECHA	E 22	F 5	F 19	F 21 / 22	E 22	F 5	F 19	F 21 / 22	E 22	F 5	F 19	F 21 / 22
CERDO												
46												
47												
48												
49												
50												
51												
52												
53												
54												
55												
56												
57												
58												
59												
60												

La tabla 4 muestra los resultados obtenidos para la unidad 4 al realizar la prueba de Neumotest.

El serotipo que tuvo mayores resultados positivos fue el serotipo 3, que contó con 23 sueros positivos; 8 pertenecientes a 1 dosis, 11 al subgrupo control y 4 pertenecientes a la bacteria de estabilidad, en tanto que el serotipo 1 contó con 10 sueros positivos 3 pertenecientes a 1 dosis y 7 al subgrupo de estabilidad. Aunque en esta tabla se incrementa el número de sueros positivos contra el serotipo 1, el número mayor de sueros positivos sigue siendo para el serotipo 3, como en las tablas anteriores, este es el que predomina.

- (+) a serotipo 1
- (+) a serotipo 3

Fechas:
Enero 22
Febrero 5, 19, 21, 22.



El gráfico 4 muestra los resultados obtenidos de la prueba Neumotest al evaluar los sueros, como en las anteriores se observa el predominio de anticuerpos contra el serotipo.

Para 1 dosis tenemos un 72.72% (+) para serotipo 3 y un 27.27% (+) para serotipo1, el grupo control contó con un 100% (+) para serotipo 3 y el grupo de estabilidad con un 36.36% (+) para serotipo 3 y 63.63% (+) para serotipo1.

Aunque en esta unidad se volvió a observar que hay un incremento en la producción de anticuerpos contra el serotipo1 (grupo de estabilidad), en general se observa el mismo comportamiento que en las tablas 6, 7 y 8.

Tabla 5. Indica las fechas en las que se realizaron los sangrados y los resultados obtenidos mediante la prueba en los grupos A y C, así como el comportamiento del grupo B a lo largo del experimento.

SEROTIPO 5 / UNIDAD 5

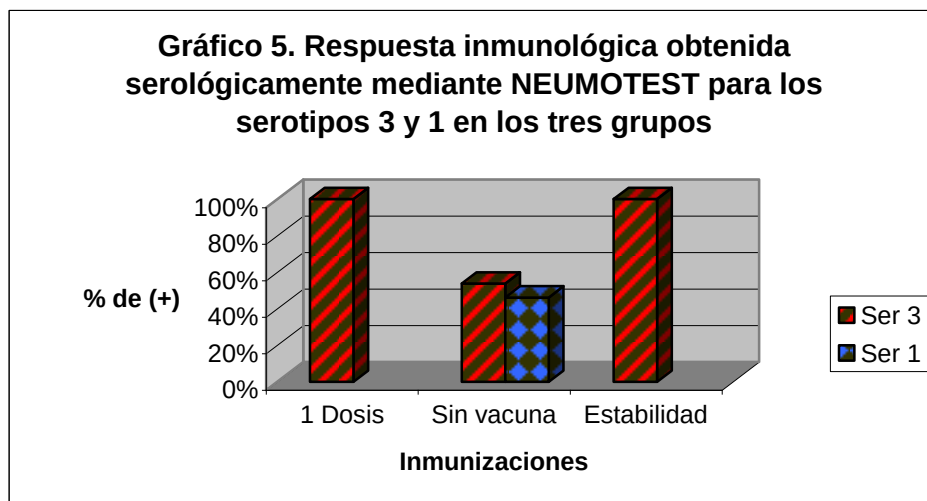
GRUPO	A				B				C			
	1 DOSIS				SIN VACUNA				ESTABILIDAD			
FECHA	E 22	F 5	F 19	F 21 / 22	E 22	F 5	F 19	F 21 / 22	E 22	F 5	F 19	F 21 / 22
CERDO												
61												
62												
63												
64												
65												
66												
67												
68												
69												
70												
71												
72												
73												
74												
75												

En la tabla 5 predomino la formación de anticuerpos contra el serotipo 3 como lo indican los resultados obtenidos.

El serotipo que tuvo mayores resultados positivos fue el serotipo 3, que contó con 33 sueros positivos; 15 pertenecientes a 1 dosis, 7 al subgrupo control y 11 pertenecientes a la bacteria de estabilidad, en tanto que el serotipo 1 contó con 6 sueros positivos pertenecientes todos ellos al subgrupo control .

- (+) a serotipo 1
- (+) a serotipo 3

Fechas:
Enero 22
Febrero 5, 19, 21, 22.



El gráfico 5 muestra los resultados obtenidos al evaluar los sueros, como en las anteriores se observa el predominio de anticuerpos contra el serotipo.

Para 1 dosis tenemos un 100% (+) para serotipo 3, el grupo control contó con 53.84 (+) para serotipo3 y 46.15% (+) para serotipo1, el grupo de estabilidad contó con 100% (+) para serotipo3.

En esta unidad de volvió a observar que hay un incremento en la producción de anticuerpos contra el serotipo1 (grupo control), en general se observa el mismo comportamiento que en las tablas pasadas, en las que el mayor porcentaje de anticuerpos lo tiene el serotipo 3.

Tabla 6. Indica las fechas en las que se realizaron los sangrados y los resultados obtenidos mediante la prueba en los grupos A y C, así como el comportamiento del grupo B a lo largo del experimento.

SEROTIPO 7 / UNIDAD 6

GRUPO	A				B				C			
	1 DOSIS				SIN VACUNA				ESTABILIDAD			
FECHA	E 22	F 5	F 19	F 21 / 22	E 22	F 5	F 19	F 21 / 22	E 22	F 5	F 19	F 21 / 22
CERDO												
76												
77												
78												
79												
80												
81												
82												
83												
84												
85												
86												
87												
88												
89												
90												

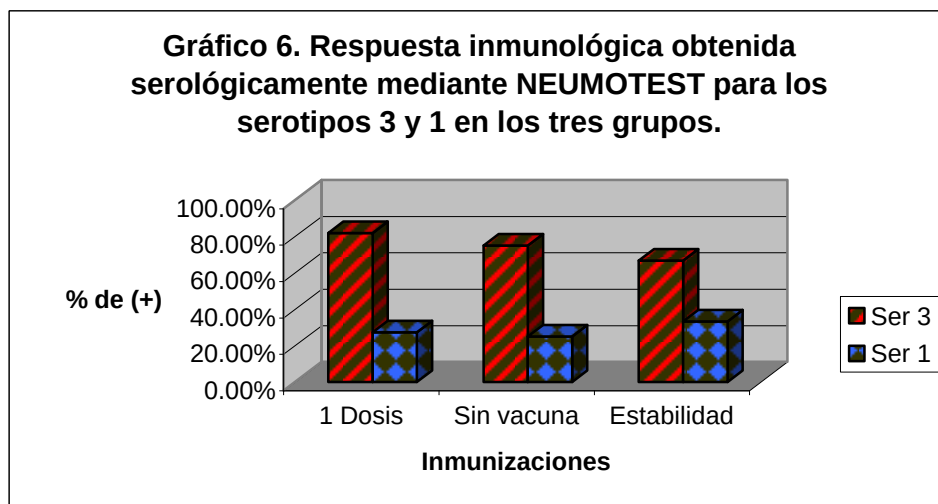
En la tabla 6 predomino la formación de anticuerpos contra el serotipo 3 como lo indican los resultados obtenidos y conforme al comportamiento observado en las tablas anteriores.

El serotipo que tuvo mayores resultados positivos fue el serotipo 3, que contó con 26 sueros positivos; 9 pertenecientes a 1 dosis, 9 al subgrupo control y 8 pertenecientes a la bacterina de estabilidad en tanto que el serotipo 1 contó con 10 sueros positivos 3 de ellos pertenecientes a 1 dosis, 3 al subgrupo control y 4 al subgrupo de estabilidad.

La peculiaridad que esta tabla muestra, es la presencia de ambos serotipos en todos los subgrupos pertenecientes a la unidad 6, lo que en las anteriores no se observó.

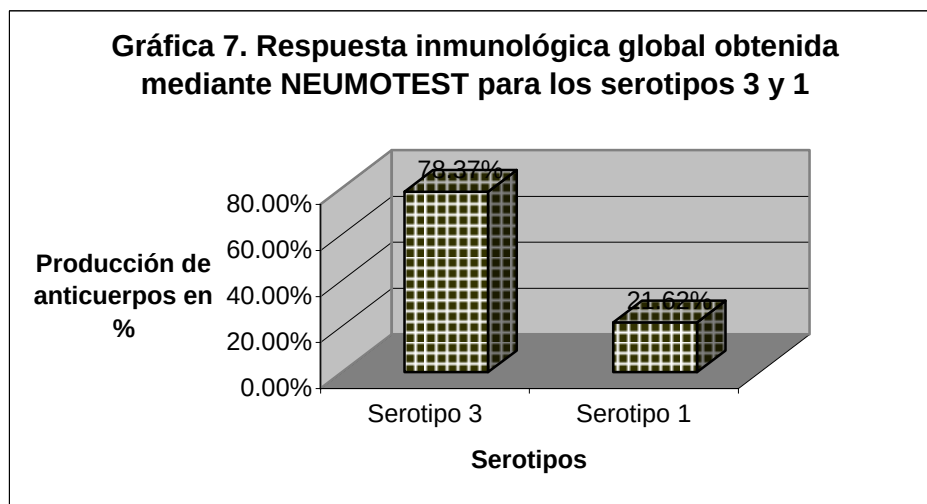
- (+) a serotipo 1
- (+) a serotipo 3

Fechas:
Enero 22
Febrero 5, 19, 21, 22.



El gráfico 6 muestra los resultados obtenidos al evaluar los sueros, como en las anteriores se observa el predominio de anticuerpos contra el serotipo 3.

Para 1 dosis tenemos un 81.81% (+) para serotipo 3, 27.27% (+) para serotipo 1, el grupo control contó con 75% (+) para serotipo3, 25% (+) para serotipo1 y el grupo de estabilidad contó con 66.66% (+) para serotipo3, 33.33% (+) para serotipo 1.



El gráfico 7 resume el comportamiento de los cerdos en cuanto a la producción de anticuerpos frente a la bacterina, muestra que en todas las muestras sanguíneas y en todas las unidades el serotipo que presenta elevada seroprevalencia es el 3, seguido del serotipo 1 con un porcentaje más bajo. La respuesta observada en las 6 unidades (así como en los subgrupos), sigue el mismo patrón en cuanto al montaje de respuesta inmune.

El total de sueros analizados fueron 185, de los cuales 145 fueron positivos al serotipo 3 y 40 al serotipo 1, si esto se traduce a porcentajes 78.37% son (+) a serotipo 3 y 21.62% (+) a serotipo1, lo cual confirma que la vacuna proporciona una mejor protección contra el serotipo 3, y aunque se produjo respuesta contra el serotipo1 esta es en menor porcentaje.

Por lo anterior se hace evidente una respuesta mucho mayor de anticuerpos contra el serotipo 3 con la prueba de NEUMOTEST.

5. DISCUSIÓN

Hoy en día la serología juega un papel importante en el control de las enfermedades ya que cuando se efectúa, se puede determinar que animales están colonizados por microorganismos potencialmente patógenos, dado que en la mayoría de los casos los animales pueden ser portadores asintomáticos del agente causal infectando al animal sin causarle la enfermedad y la inmunidad que induzca no sea absoluta pudiendo colonizar a otro animal. Por este motivo en la actualidad se recomienda el empleo de perfiles serológicos también llamados seropérfiles, los cuales se basan en la determinación de que porcentaje de animales están enfermos y cuantos portadores sanos existen para establecer las medidas de control de las infecciones en el caso de la PCP, posteriormente en un plazo de 3 a 6 meses se recomiendan realizar un nuevo perfil con el fin de evaluar si las medidas de control tomadas son efectivas o de lo contrario tomar otras que complementen las ya establecidas (Torres, 1995).

La vacunación para infecciones causadas por *Actinobacillus pleuropneumoniae* ha sido efectiva para controlar los brotes agudos y también para reducir las lesiones en animales infectados, como todos sabemos para este propósito es importante determinar el serotipo o los serotipos involucrados en la unidad problema, en estos casos la serología es usada para indicar cuando ocurren los problemas en la unidad. Esto puede efectuarse mediante un perfil serológico (Wayne, 1993).

Para poder establecer los perfiles serológicos a nivel de campo es recomendable contar con pruebas rápidas de diagnóstico que permitan obtener resultados confiables para que el Médico Veterinario establezca las medidas preventivas adecuadas. El NEUMOTEST presenta ciertas ventajas sobre otras pruebas de laboratorio ya que permite obtener

resultados confiables en un mínimo de tiempo, no requiere equipo sofisticado, ni de personal calificado para realizar las pruebas, además, permite conocer que serotipos de *Actinobacillus pleuropneumoniae* se encuentran presentes en las granjas y poder establecer programas de control como son la vacunación contra los serotipos presentes en cada granja y poder erradicar la enfermedad. (Torres, 1995)

Por estudios realizados se sabe que los serotipos comúnmente identificados en México son el 1, 3, 5, y 7; tomando mayor importancia los brotes reportados por el serotipo 1 ya que es el más virulento comparado con los serotipos 2 y 3. Sin embargo no se le ha dado la suficiente importancia a estos dos últimos, por lo que no hay que descuidar ningún serotipo por muy baja que sea su virulencia y prevalecía (Camacho, 2005).

Ya que en este trabajo los resultados indican que el serotipo 3 muestra elevada producción de anticuerpos La prevalencia en México del serotipo 1 de *Actinobacillus pleuropneumoniae* es elevada, de hecho es el más predominante en el país, según reporte de Ciprián y cols. (Mendoza, y Ciprián 2001) y Díaz y cols. (Díaz, 1985-1988), quienes además demostraron la presencia de los serotipos 2, 3 por lo que los resultados que nosotros mostramos concuerdan con los de Díaz, ya que en este estudio se pudo detectar anticuerpos contra de los serotipos 1 y 3, lo anterior puede deberse a la comercialización de pies de cría y verracos sin control sanitario, diagnóstico y cuarentena con los países del norte de América ha fomentado la entrada no sólo de animales para mejoramiento genético, si también de nuevos serotipos de *Actinobacillus pleuropneumoniae* y otras enfermedades que no se encontraban en el país. (Torres, 1995)

La prueba de NEUMOTEST está basada en una reacción de aglutinación, esta puede definirse como la agregación inmunoquímica específica de partículas (bacterias, eritrocitos, coloides sintéticos) cubiertas con antígeno o anticuerpo. La aglutinación de las partículas transportadoras se produce como una reacción secundaria indirecta), que presenta la respuesta inmune. El antígeno (o anticuerpo, según el reactivo que deba detectarse en la muestra de prueba) reviste, física o químicamente, la superficie de las partículas. Si en la muestra de prueba se encuentra el anticuerpo tipo-específico (o antígeno en los reactivos con partículas cubiertas con anticuerpo) se forman enrejados interconectados, que se visualizan en forma de aglutinación (Koneman).

La técnica utilizada es semicuantitativa y está destinada a identificar anticuerpos capsulares de *Actinobacillus pleuropneumoniae* presentes en el suero del cerdo, además aporta un sin número de ventajas, ya que funciona como herramienta principal con lo cual los mismos porcicultores pueden llevarla a cabo si sospechan de un posible contagio con PCP, como se realiza en un periodo corto de tiempo, brinda una ventaja primordial para tomar medidas de control y prevenir un posible brote y lo mejor es que es de bajo costo, por tanto todos los porcicultores pueden tener acceso a ella y conocer el estatus de su granja.

Los resultados que se obtuvieron del programa de inmunización en el presente estudio, se realizaron con el NEUMOTEST que funciona como herramienta principal ya que aporta un sin número de ventajas, entre ellas un diagnóstico fácil, rápido, certero y de bajo costo con lo cual los mismos porcicultores pueden llevarla a cabo en un periodo corto de tiempo, esto brinda una ventaja primordial para tomar medidas de control y prevenir un posible brote, por el bajo costo de la prueba todos los porcicultores pueden tener acceso a ella y conocer el estatus de su granja.

Se evaluó la respuesta inmunológica de anticuerpos, en cerdos vacunados con una bacterina comercial, que contiene los serotipos 1, 2, 3, 4, 5 y 7 de *Actinobacillus pleuropneumoniae*, se realizó el procedimiento de inmunización con una vacuna reciente y una de 1 año de vida de anaquel, con la finalidad de determinar mediante la inmunogenicidad que estas produjeran, la capacidad de protección que podrían conferir a los cerdos que se encuentran tanto en granjas convencionales como de alta salud, cuando estos lleguen a estar en contacto con la PCP, la vacuna seleccionada debía producir una cantidad elevada de anticuerpos, con lo cual quedaría garantizada una mejor respuesta del cerdo contra la pleuroneumonía.

Los resultados en los 90 cerdos inoculados con la bacterina comercial, nos permitieron observar una elevada prevalencia del serotipo 3, este porcentaje se observó más elevado en la vacuna de estabilidad, seguida en porcentaje de seroprevalencia de la vacuna de lote reciente; en cuanto a el serotipo 1, los resultados nos muestran que la vacuna con más elevado porcentaje de anticuerpos lo presenta la de estabilidad, seguida en porcentaje de la de lote reciente, como en el caso del serotipo 3.

La dosis de 2 ml fue seleccionada, como lo marcan otras compañías farmacéuticas, ya que la protección que esta confiere resulta adecuada sin poner en riesgo la integridad del animal, evitando que se desarrolle una reacción de Shwartzman-Sanarelli, lo cual no es deseado ni conveniente este se produce cuando dos dosis de endotoxina son administradas a intervalos de un tiempo corto (en horas) por vía intravenosa, dando lugar a una coagulación intravascular generalizada con necrosis bilateral de la corteza renal que suele ser mortal (Mendoza, 2005).

Al realizar el estudio con bacterina reciente y con un año de vida de anaquel se pretendía demostrar la estabilidad de la vacuna y su capacidad para combatir a la bacteria causal de la PCP, notamos que ambas inducen a producir una elevada cantidad de anticuerpos (ya que los porcentajes obtenidos en las dos son muy similares), con lo cual quedaría demostrada la efectividad de la vacuna con un año de vida de anaquel, esto quiere decir que la vacuna puede ser conservada por un período largo de tiempo sin perder su efectividad, ambas vacunas son adecuadas para conferir protección contra el serotipo 3 principalmente y en menor grado contra el 1, con lo cual brindan una opción efectiva para la protección de los cerdos en una posible exposición contra PCP.

Las fechas 21/22 de Febrero aparecen juntas debido a que el desafío se realizó el día 21 y los cerdos empezaron a morir al día siguiente por lo cual el período corto de tiempo entre ellos no fue suficiente para que se desarrollara una adecuada respuesta inmunogénica, que fuera representativa de cada fecha.

En el gráfico 6; esta unidad mostró de nuevo que hay un incremento en la producción de anticuerpos contra el serotipo 1, ya que este se hace evidente en todos los subgrupos, lo que no se observó en las unidades anteriores, aunque la respuesta de anticuerpos se muestra hacia los dos serotipos, en general se observa el mismo comportamiento que en las tablas pasadas, en las que el mayor porcentaje de anticuerpos lo tiene el serotipo 3.

La vacuna es efectiva y brinda una mejor protección contra el serotipo 3 de *Actinobacillus pleuropneumoniae*, mencionando una vez más que el tiempo de almacenaje no afecta su potencia o efectividad presentando el porcentaje más elevado en la producción de anticuerpos; con un porcentaje menos significativo aparece el serotipo 1, la vacuna confiere protección pero en menor medida, con lo cual se confirma una vez más que el serotipo 1 es el más patógeno y problemático ya que por estudios realizados se sabe que los serotipos

más comunes en México son el 1,3,5 y 7; tomando mayor importancia los brotes reportados por el serotipo 1, ya que es el más virulento comparado con los serotipos 2 y 3 (Camacho, 2005).

Al finalizar este estudio se vuelve a observar que el serotipo 1 es el más patógeno por lo cual hay que buscar otras alternativas para combatir a este serotipo. En cuanto al serotipo 3 hay una respuesta adecuada para combatirlo, con lo cuál se confirma que la vacuna podría ser específica o confiere adecuada protección únicamente contra el serotipo 3, por lo cual es una buena opción si el brote es causado por *Actinobacillus p.* serotipo 3.

Los cuidados que se tuvieron con las vacunas para que los resultados fueran óptimos son los mismos que se tienen con todas las vacunas en general, entre ellos están las siguientes: No debe congelarse, mantener en cámara fría (entre 2° y 7° C), no exponer a luz solar, en caso de reacción anafiláctica emplear adrenalina, como antídoto, vía de administración I.M.

El presente experimento nos permitió observar que la pleuroneumonía produce muchas pérdidas en cerdos debidas a que la morbilidad y mortalidad son altas, por lo cual es importante hacer un diagnóstico correcto en cuanto al serotipo involucrado en el brote y esto se realiza fácil y rápido gracias a NEUMOTEST.

Con los resultados obtenidos es posible establecer programas de tratamiento y de control específicos para una unidad porcícola.

Se observa que la bacterina administrada nos brinda otra opción para el control de la PCP, sin embargo hay que recordar que la vacuna no cura por completo una infección cuando esta aparece, solamente previene y minimiza los efectos tan devastadores que causa, y aunado a un buen tratamiento la enfermedad puede ser detenida y contenida evitando pérdidas totales por parte de los porcicultores (Wayne, 1993).

6. CONCLUSIONES

- La prueba NEUMOTEST permite identificar los serotipos prevalecientes en la explotación o granja porcícola, con lo cual se pueden desarrollar estrategias encaminados a la medicación y vacunación contra *Actinobacillus pleuropneumoniae*.
- NEUMOTEST es una prueba rápida, sencilla y barata que nos permite hacer perfiles de la enfermedad identificando en minutos el punto de infección de la granja. Por lo cual es una herramienta valiosa para los veterinarios y porcicultores.
- La bacterina administrada es adecuada para conferir protección contra el serotipo 3 de *Actinobacillus pleuropneumoniae*, a pesar de no considerarse como el más patógeno, quedo demostrada su elevada prevalencia.
- La vacuna con bacterina comercial puede almacenarse por períodos largos de tiempo, manteniendo la misma efectividad que la vacuna de lote reciente.
- Esta vacuna comercial es una alternativa adecuada para prevenir brotes o infecciones de neumonía, principalmente contra el serotipo 3 y en menor proporción contra el serotipo 1, ambos considerados los patógenos causantes de la mayoría de brotes en México, con lo cual el porcicultor tendrá una opción más para proteger a su granja contra esta devastadora enfermedad.

7. REFERENCIAS.

- ❖ Álvarez M. Clara Inés, Mendoza Elvira Susana E. (1994) Manual básico de bacteriología. Ed. UNAM. México.
- ❖ Amass, S. (1988) Swine Respiratory Diseases: A Review. The effect of wern age on pathogen removal. Memorias del VII Día del porcicultor. Asociación de Médicos Vetrinarios Zootecnistas Especialistas en Ciencias Porcícolas del Sur de Sonora, A. C., Navojoa, Sonora, México.. pp 6-20.
- ❖ Borbolla German. (2005) Crecimiento variable. Un continuo problema de producción. Departamento de producción animal: Cerdos. FMVZ-UNAM. .
- ❖ Camacho Herrera Cesar. (2005) Determinación de la seroprevalencia de *Actinobacillus pleuropneumoniae* responsable de la pleuroneumonía contagiosa porcina en cerdos de traspatio en Tuxtla Gutiérrez, Chiapas.. F.E.S. Cuautitlán; UNAM. Tesis.}
- ❖ Ciprián, C.A.; Medina, A.G.; Fuentes, R.M.; Pijoan, A.C.; Torres, A.O.; Colmenares, V.G.; Camacho, M.J. (1988) “Serotipificación de *Haemophilus pleuropneumoniae* aislados de cerdo en México.”. pp 19: 205-210.
- ❖ Cole, J.R. (1978) “*Haemophilus paraahaemoliticus* asociated with pleuropneumonia in Georgia” Vet. Med. Small Anim. Clin.. pp 73: 1444-4446.
- ❖ Cowan, S.T., Steel, J. (1974) Manual para la identificación de Bacterias de interés médico. 2th De. Cambridge Univ. Pres. 137-142 , .

- ❖ Darwich I; Mateu, E.; Martín, M. (1999) Salmonelosis, síntesis porcina en España de cepas con perfiles de multiresistencia a los agentes antimicrobianos. Anaporc, 195:5-16.
- ❖ Desrosiers Robert, DVM, Dial ABVP., (2004) Howard Dunne Memorial Lecture., Epidemiology, diagnosis and control of swine diseases., 1 American Association Of Swine Veterinarians.
- ❖ Díaz, C., González, M., Jiménez, E., Sthepano. A. (1988) Identificación de diferentes serotipos de *Actinobacillus (Haemophilus) pleuropneumoniae* aislados en México de cerdos con pleuroneumonía de 1985 a 1988. Vet. Méx. 20: 157-160.
- ❖ Fales W. H. Morehouse L.F. Mittal, K.R. Knudsen C.B. Nelson S.L. Kinter, L.D. Turk J.R. Turk M.A. Brown T.P. & Shaw D.P. (1989) Antimicrobial susceptibility and serotypes of *Actinobacillus (Haemophilus) pleuropneumoniae* recovered from Missouri swine J. Vet. Diagn. Invest., 1:16-19.
- ❖ Fenwick, B. and Henry, S. (1994) Porcine pleuropneumonia. J.Am.Vet. Med. Assoc. 204: 1334-1340.
- ❖ Gerrlach, G.F., Anderson, C., Klashinsky, S., Rossi-Campos, A. Potter. A.A., Wilson, P.J. (1993). "Molecular characterization of protective outer membrane lipoprotein (Oml A) from *Actinobacillus pleuropneumoniae* serotype I". Infect. Immun. 61: 565.
- ❖ Gingold, E. (1990) Biología Molecular. Ed. Acribia, S.A. pp 22-39.

- ❖ González, R.N.; Cruz, S.T.; Mendoza, E. S.; Hernández-Baumgarten, E.; Colmenares, V.G.; Romero, R.A.; Tórtora, P.J.; y Ciprián, C.A.(1999). Evidencia por microscopía electrónica de barrido del daño al epitelio mucociliar producido por la interacción entre *Mycoplasma hyopneumoniae* y *Pasteurella multocida* en el pulmón del cerdo. Tec. Pecuaria en México. pp 37 (3): 31-42.
- ❖ Gottschalk Marcelo, DMV, PhD (Profesor) (2005) Tendencias actuales en el control de *Actinobacillus*, *Hemophilus* y *Streptococcus*. Canadian Research Network on Bacterial Pathogens of swine., Facultad de Medicina Veterinaria., Universidad de Montreal, Quebec, Canada.
- ❖ <http://www.labgeminis.com/disclaimer.htm>
- ❖ [http://www. Porcicultura.com](http://www.Porcicultura.com).
- ❖ <http://www.sanidadanimal.info.htm>
- ❖ Iglesias Sahagún Gerardo., Trujado Castillo Margarita. (2000) Diversos modelos de interacciones que ocurren en el complejo respiratorio porcino. Vet. Méx., 31 (1).
- ❖ Jacques Nicolet. (1986) Compendio de bacteriología Medica Veterinaria. Ed. Acribia, S.A., España .
- ❖ Koneman Elmer W., M.D. et. Al., Diagnóstico Microbiológico (Texto y Atlas Color). , 3ª ED., Editorial Medica panamericana., Cap. 18 Nuevas tecnologías para el diagnóstico de laboratorio de las enfermedades infecciosas.

- ❖ Landquist, J.O. (1974) Animal and environment in the production patterning pigs. Acta Vet. Scan. Supl. 51.
- ❖ Lara Puente Jesús Horacio, MVZ. (2002) Los porcicultores y su entorno. Año 5. No 29. pp 130-136. Septiembre-Octubre .
- ❖ Loeffen WLA, Kamp EM, Stockhofe – Zurwieden N, et. Al. (1999) Survey of infectious agents involved in respiratory disease un fihishing pigs. Vet. Rec. pp145: 123-126.
- ❖ López M. (1993) Complejo neumónico causado por *Haemophilus pleuropneumoniae*_Porcirama. 3:32-49.
- ❖ Mendoza Elvira Susana E.; Ciprián Carrasco Abel. (2001) Memorias del Tercer ciclo Nacional de Enfermedades Respiratorias del Cerdo. Ed. UNAM. Agosto 2001.
- ❖ Mendoza, E.S., González D. Trujillo D, Vargas S.A., Hernández-Baumgarten, E. Ciprián C.A. Tórtora P.J. (2005) FESC-Cuautitlán, UNAM.Campo1, Posgrado; CENID-Microbiología veterinaria. INIFAP.
- ❖ Olander H.J. (1963) “ Asepticemic disease of swine and its causative agents: *H parahemolyticus*”. Ph. D. Thesis, University of California, Davis.
- ❖ Pijoán Aguade Carlos. (2004) Rompiendo Paradigmas, Congreso Nacional AMVEC XXXIX. Mazatlán., 28 de Julio al 1º de Agosto. (Memorias).
- ❖ Plonait Hans , Bickhardt Klaus (editores). (2001) Manual de las enfermedades del cerdo. Ed. ACRIBIA, S.A., Zaragoza (España). 1ª Edición en lengua española .

- ❖ Pohl, S., Bertschinger, H.U., Frederickson, W., Mannheim, W. (1983) “Transfer of *Haemophilus pleuropneumoniae* and *Pasteurella haemolytica* – organism causing porcine necrotic pleuropneumonia to the genus *Actinobacillus* (*Actinobacillus pleuropneumoniae*_comb. nov.) on the basis of phenotypic and deoxyribonucleic acid relatedness”. Int. J. Syst. Bact. pp 33: 510-514.
- ❖ R. Moreno Chan. Ciencia Veterinaria 9. Editor., ISBN 970-32-1400-2., UNAM-FMVZ. México 2003-4., 1ª Ed.- C. Universitaria, 04510, México, D.F.
- ❖ Schaechter Moselio PhD. (1994) Microbiología. Mecanismos de las enfermedades infecciosas. 2ª Ed. Editorial. Medica Panamericana. Buenos Aires Argentina.
- ❖ Shultz, R.A (1982) Prevalence of antibodies to *Haemophilus pleuropneumoniae* in Iowa swine. A.J. V.R. 43:1848-1851.
- ❖ Shultz, R.A., Rose, R.F., Gunarsson, A., Nielsen, R. (1983) “Serotyping 50 different isolates of *Haemophilus pleuropneumoniae* from swine pleuropneumonia on Iowa and surrounding states”. Vet. Med. Small Anim. Clin. 78: 1451-1453.
- ❖ Shope, R.E. (1963) “Porcine contagious pleuropneumonia I y II. Experiment transmission, etiology and pathology”. J. Exp. Med. pp 19: 357-368.
- ❖ Straw Barbara E., Allaire Sylvie D., Taylor David J. (1999) Diseases of swine. Ed. AMES, IOWA, U.S.A.

- ❖ Taylor D.J, MA. Vet. MB. Ph D. MRCVS. Professor of Veterinary. (1999) PIG DISEASES. Bacteriology and Public Health, Glasgow University. Seventh Edition.
- ❖ Torres Angeles Oscar. (1995) Estudio microbiológico de *Actinobacillus pleuropneumoniae* y serológico con Pleurotest, serotipos 1, 2, 3, 5, 7 y 9 con muestras obtenidas de rastro. F.E.S. Cuautitlán, UNAM. Tesis 67/95.
- ❖ Thomas M, PhD. (2002) ¿Cómo funciona la inmunización? Collage of Veterinary Medicine. University of Minnesota.
- ❖ Thomson Healhcare, (2001-2002) Prontuario de Especialidades Veterinarias., Farmacéuticas, biológicas y nutricionales., PLM., PEV/21/Edición 2001-2002, PLM, agrositio.com., Editado por Ediciones PLM, S.A. de C.V., Hecho en México., Pp48, 215, 217, 224, 322, 344.
- ❖ Torres-León Marco A., Ramírez-Porras Rosa G., (1999) Enfermedades de los porcinos diagnosticadas en la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Autónoma de Yucatán durante los años de 1988 a 1997. Vol. 10/No 2/ Abril-Junio, Rev Biomed 10:93-101.
- ❖ Vargas A. (1994) Evaluación económica y sanitaria d la despoblación-repoblación parcial combinada con el uso preventivo de alimento medicado y una bacterina, en granja porcina infectada por *Actinobacillus pleuropneumoniae*. Tesis MVZ, UNAM, México. Pp 5-18.

- ❖ Wangnarkep S. & Pfeiffer D.U. (1999) An on-Farm study of the epidemiology of *Actinobacillus pleuropneumoniae* infection in pigs as part of a vaccine efficacy trial. Prevent. Vet. Medi. pp 39: 1-11.
- ❖ Wilson P Falk G. & Klashinsky S. (1987) Detection of *Actinobacillus pleuropneumoniae* infection in pigs., Can. Vet. J. pp 28: 111-116.
- ❖ Wayne Freese; D.V.M., M.S., Ph.D., Worthington Veterinary Clinic, Worthington, Minn. EUA., Síndrome clínico y procedimientos de tratamiento para *Actinobacillus (Haemophilus) pleuropneumoniae*. Porcrama 32-197., Varios números 1993-1994., Año 3, Vol 3, Agosto 1993., Pp 18-31.
- ❖ W. Scöll, ILSA Itahn. Et.al. (1994) Utilización de vacunas contra Salmonelosis de animales domesticados en el marco de la concepción de lucha y saneamiento, Medicamentum.

