

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO  
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

USO DE LAS PROTEÍNAS DE FASE AGUDA EN LA EVALUACIÓN  
SANITARIA DE LA PIARA PORCINA: ESTUDIO DE REVISIÓN

TESIS  
QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE  
MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

PRESENTA

FRANCISCO ADRIÁN MORENO GARCÍA

Asesores:  
M.V.Z., Ph. D. Antonio Morilla González  
M.V.Z., M. en C. Rosalba Carreón Nápoles

México, D.F.

2010



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



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

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

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

## DEDICATORIAS

**A Adrián Moreno Rosales y Alicia García López, mis padres,**

*Porque sin su amor, dedicación y apoyo incondicional, no se habría culminado este trabajo, que representa el fruto de sus esfuerzos para brindarme una educación, que me permitió desarrollarme en todos los aspectos para alcanzar el sueño de ser un profesionalista.*

**A mi hermano Rodolfo Axel Moreno García,**

*Por su compañía, comprensión, tolerancia y amistad indispensables en todo este trayecto como aliciente para cumplir con mis metas.*

**A María del Rosario García López,**

*Por ser más que una Tía, una abuela y amiga.*

**A mis primos Fernando, Claudia, Dulce y Dionisia,**

*Por su inmenso apoyo, cariño y amistad, por ser más que primos, hermanos.*

**A mi Tío el Prof. Fernando Ortiz García, por su cariño y apoyo.**

**A mis sobrinas, María Fernanda y Naomi**

*Por ser la alegría, la felicidad, inocencia y sinceridad hechas niñas.*

**A Catalina,**

*Porque desde que estas conmigo recupere la alegría y el entusiasmo, porque me hiciste ver las cosas desde otra perspectiva y por que me das la oportunidad de amar y ser amado.*

## AGRADECIMIENTOS

Quiero dejar aquí una constancia explícita de mi más genuino agradecimiento a todos los Médicos Veterinarios dedicados a estudiar profundamente y enseñar la ciencia y arte de la medicina veterinaria sin otro compromiso que el gusto de querer hacerlo. Gracias por sus invaluable enseñanzas, por sus afanosos empeños y en algunos casos, por su desinteresada amistad.

No podría dejar de mencionar, en particular, a mis asesores Antonio Morilla González y Rosalba Carreón Nápoles, quienes en todo momento estuvieron atentos al desarrollo de esta tesis y en muchas ocasiones me mostraron caminos insospechados por mí y que fueron definitivos para la feliz conclusión de este mi trabajo.

De la misma manera, no debo dejar pasar la oportunidad de externar mi más genuino agradecimiento a los miembros de mi jurado. Suyos fueron diversos puntos de vista ciertamente aleccionadores.

Vaya también mi más grande agradecimiento a la Universidad Nacional Autónoma de México, y a la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia instituciones de gran prestigio que me permitieron formarme con la más alta calidad académica.

Sin olvidarme de todos y cada uno de los animales de cada una de las especies que brindaron su vida para que yo pudiera aprender esta honrosa profesión.

Quisiera hacer extensivo mi agradecimiento a todos mis compañeros y entrañables amigos de la facultad: Israel, Oscar, Anibal Israel, Alejandro, Aboites, por las experiencias compartidas a lo largo de toda la carrera. Sin olvidarme de todos mis QQ.:HH.: por ser parte de una misma filosofía y compartir un ideal.

Gracias también a la doctora Laura Hernández e Isabel Tuxpan por su apoyo y comprensión, así como también a las familias García López, Moreno Rosales y al señor José Luís Gonzales Rivas, por su apoyo moral y estima.

Por ultimo quiero agradecer a esa idea proyectada al infinito por escuchar las oraciones de mi madre y ser la esperanza en los momentos donde la incertidumbre imperaba.

Gracias a todos.

## CONTENIDO

	Página
RESUMEN	1
1. INTRODUCCIÓN	2
2. REVISIÓN SISTEMÁTICA	5
3. ANÁLISIS DE LA INFORMACIÓN	6
3.1 Características de las proteínas de fase aguda	6
3.2 Inducción de las proteínas de fase aguda	8
3.3 Estructura y función de las proteínas de fase aguda que se han evaluado en porcinos	11
3.3.1 Proteína C-Reactiva (CRP)	11
3.3.2 Amiloide A Sérico (SAA)	14
3.3.3 Haptoglobina (Hp)	15
3.3.4 $\alpha$ 1-glicoproteína ácida (AGP)	16
3.3.5 Pig-Map	17
3.4 Métodos de evaluación en el suero de los cerdos	18
3.4.1 Proteína C-Reactiva (CRP)	20
3.4.2 Amiloide A Sérico (SAA)	21
3.4.3 Haptoglobina (Hp)	22
3.4.4 $\alpha$ 1-glicoproteína ácida (AGP)	23
3.4.5 Pig-Map	23
3.5 Aplicación de las proteínas de fase aguda a enfermedades	25
3.5.1 Enfermedades Respiratorias	25
3.5.1.1 Pleuroneumonía Porcina ( <i>Actinobacillus pleuropneumoniae</i> )	25
3.5.1.2 Neumonía Enzootica ( <i>Mycoplasma hyopneumoniae</i> )	29
3.5.1.3 Infección mixta con <i>M. hyopneumoniae</i> y <i>Actinobacillus pleuropneumoniae</i>	34
3.5.1.4 Síndrome reproductivo y respiratorio porcino (PRRS)	37
3.5.1.5 Complejo respiratorio porcino	39
3.5.1.6 Síndrome del desgaste multisistémico post-destete (PMWS)	42
3.5.2 Enfermedades digestivas	49
3.5.2.1 Salmonelosis entérica porcina ( <i>Salmonella typhimurium</i> )	49
3.5.2.2 Colibacilosis porcina ( <i>Escherichia coli</i> )	52
3.5.3 Otras enfermedades	55
3.5.3.1 Estreptococosis porcina ( <i>Streptococcus suis</i> )	55
3.5.4 Prácticas de manejo	58
3.5.5 Nutrición	64

3.5.6 Transporte y Manejo	72
3.5.7 Inspección de la canal en el rastro	89
3.5.8 Bienestar Animal	92
3.6 Conclusiones	98
4. REFERENCIAS	100
5. FIGURAS	114

## Lista de Abreviaturas

PFAs	Proteínas de Fase Aguda	EP	Neumonía enzoótica
Hp	Haptoglobina	PL	Pleuroneumonía Porcina
CRP	Proteína C reactiva	PRRS	Síndrome Reproductivo y Respiratorio Porcino
AGP	$\alpha$ -1-glicoproteína ácida	PCV2	Circovirus porcino tipo 2
SAA	Amiloide sérico A	PCR	Reacción en cadena de la polimerasa
Pig-MAP	Proteína Mayor de Fase Aguda	PMWS	Síndrome del desgaste multisistémico post-destete
ITIH4	Inhibidor de tripsina inter-alfa de cadena pesada	DS	Desviación estándar
TTR	Transtirretina	IGF-1	Factor de crecimiento insulínico tipo 1
RFA	Respuesta de fase aguda	S. TYP	<i>Salmonella typhimurium</i>
Eje-HPA	Eje hipotálamo-pituitaria-adrenal	<i>E. coli</i>	<i>Escherichia coli</i>
IL-1	Interleucina uno	<i>S. suis</i>	<i>Streptococcus suis</i>
IL-6	Interleucina seis	ApoA1	Apolipoproteína A1
TNF- $\alpha$	Factor de necrosis tumoral alfa	CBC	Cuenta completa sanguínea
PnC	Pared celular del neumococo	GDP	Ganancia diaria de peso
PCh	Fosfocolina	LPS	Lipopolisacárido
PAF	Factor de inhibición plaquetario	Cp	Ceruloplasmina
HDL	Lipoproteína de alta densidad	CA	Conversión alimenticia
ITI	Inter-alfa-tripsina	CDA	Consumo diario de alimento
NAPI	Índice indicador nutricional		
TR-IFMA	Inmunofluorometría de tiempo resuelto		
SPF	Libre de patógenos específicos		
Mh	<i>Mycoplasma hyopneumoniae</i>		

## Lista de Cuadros

		Pág.
Cuadro 1	Función de las principales proteínas de fase aguda en el cerdo.	7
Cuadro 2	Valores normales de proteínas de fase aguda en el cerdo.	24
Cuadro 3	Duración y magnitud de la respuesta de fase aguda (IL-6, SAA y haptoglobina) en sueros de cerdos experimentalmente infectados con <i>A. pleuropneumoniae</i> y tratados con enrofloxacin por 3 días consecutivos, empezando a las 20 horas post-infección.	27
Cuadro 4	Resultados de la concentración de anticuerpos contra <i>Mycoplasma hyopneumoniae</i> en cerdos mantenidos dentro de las casetas con alta presión de infección y mantenidos al aire libre.	30
Cuadro 5	Valores séricos de Alfa-1 glicoproteína acida (AGP) en cerdos en crecimiento mantenidos dentro de las casetas con alta presión de infección y mantenidos al aire libre.	31
Cuadro 6	Valores séricos de haptoglobina (Hp) en cerdos en crecimiento mantenidos dentro de las casetas con alta presión de infección y mantenidos al aire libre.	32
Cuadro 7	Valores séricos de Cortisol en cerdos en crecimiento mantenidos dentro de las casetas con alta presión de infección y mantenidos al aire libre.	32
Cuadro 8	Correlación entre pesos corporales, concentraciones séricas de Hp, AGP, cortisol y los títulos serológicos contra <i>Mycoplasma hyopneumoniae</i> en cerdos en crecimiento mantenidos dentro de las casetas con alta presión de infección y mantenidos al aire libre.	33
Cuadro 9	Estadística descriptiva de las concentraciones séricas de haptoglobina (Hp) a nivel individual (cerdo) y por granja.	35
Cuadro 10	Concentraciones (mg/mL) de haptoglobina (Hp) y la proteína mayor de fase aguda (Pig-MAP) en 10 cerdos con diagnóstico de PMWS y 5 cerdos sanos.	44
Cuadro 11	Valores medios (mg/mL) de haptoglobina (Hp) y proteína mayor de fase aguda (Pig-MAP) $\pm$ una desviación estándar de 45 cerdos de una granja la cual sufrió un brote agudo de PMWS. Para cada grupo de edad, el número de cerdos (n) y el resultado de la prueba de PCR (positivo/negativo) son enlistados.	45



Cuadro 12	Resultados para los tres grupos de edad.	47
Cuadro 13	Resultados para el grupo de edad post-destete.	47
Cuadro 14	Resumen de los cultivos sanguíneos, observaciones clínicas y hallazgos patológicos de los cerdos inoculados s.c con $10^{10}$ UFC de <i>S. suis</i> serotipo 2 cepa SS02-0119 en el día 0.	56
Cuadro 15	Influencia de un desafío con LPS y la complejidad de una dieta sobre la tasa de crecimiento y las concentraciones de haptoglobina.	65
Cuadro 16	Concentración de proteínas de fase aguda en dos líneas maternas de cerdos seguido de un desafío incrementando los niveles de lipopolisacarido (LPS).	69
Cuadro 17	Parámetros productivos en diferentes periodos experimentales.	71
Cuadro 18	Valores medios de las proteínas de fase aguda, proteína total y concentraciones de cortisol en sueros de los animales del transporte 1 (condiciones promedio) y transporte 2 (condiciones superiores) del Experimento 1.	75
Cuadro 19	Valores mínimos cuadrados de las proteínas de fase aguda y concentración de la proteína total en muestras de suero de los animales del Experimento 2.	77
Cuadro 20	Resumen de valores medios de haptoglobina (Hp), proteína C-reactiva (CRPI y proteína mayor de fase aguda (Pig-MAP) por grupo (A, B, C, D) y por tiempo de colección de la muestra sanguínea (días T1, T3, T5, T14, T28).	79
Cuadro 21	Número de cerdos con signos clínicos y prevalencias específicas por piara (%) de cerdos (n= 617).	81
Cuadro 22	Concentraciones séricas de haptoglobina (mg/ml) en 617 cerdos en finalización sometidos a una evaluación clínica estándar.	81
Cuadro 23	Concentraciones séricas de haptoglobina específicas de las piaras evaluadas.	82
Cuadro 24	Mediana y media (ds) de las concentraciones séricas de haptoglobina para los casos y controles.	83
Cuadro 25	Mediana y media (ds) de las temperaturas rectales de los casos y controles.	83

Cuadro 26	Concentraciones (media, mínimo - máximo) de Proteína C-reactiva (CRP, mg/l), Amiloide sérico A (SAA, mg/l) y Haptoglobina (Hp, g/l) de 12 cerdos en finalización con mordedura de cola (casos) y 13 animales sanos (control).	85
Cuadro 27	Concentraciones de Proteína C-reactiva (CRP, mg/l), Amiloide sérico A (SAA, mg/l) y Haptoglobina (Hp, g/l) de 12 cerdos en finalización con mordedura de cola (casos) y 13 animales sanos (control). Los resultados han sido combinados de acuerdo a la escala de lesión histopatológica de la cola. N= número de animales.	86
Cuadro 28	Coeficientes de correlación (r) describiendo la relación entre diferentes proteínas de fase aguda, Hp, AGP, Pig-MAP, TTR y SAA.	88
Cuadro 29	Media estimada y diferencias por raza en los niveles plasmáticos de proteínas de fase aguda, Pig-MAP, transtiretina y amiloide sérico A (SAA) dentro de 13 cerdos Meishan y 13 cerdos Large White y 15 machos y 11 hembras.	88
Cuadro 30	Concentraciones séricas de proteína C-reactiva (CRP), amiloide sérico A (SAA), y haptoglobina (Hp), de cerdos en Grupos 1 y 2 que mostraron solo lesiones en pulmón agrupados de acuerdo a los porcentajes de la superficie pulmonar afectada.	91
Cuadro 31	Concentraciones séricas de proteína C-reactiva (CRP), amiloide sérico A (SAA), y haptoglobina (Hp), de cerdos en Grupos 1 y 2 que mostraron solo lesiones en pulmón agrupados de acuerdo a la presencia de uno o más tipos diferentes de lesiones pulmonares.	91
Cuadro 32	Parámetros sanguíneos para cerdas alojadas en grupos de cuatro o jaulas individuales.	94

## Lista de Figuras

		Pág.
Figura 1	Resultados de los valores promedio de los signos clínicos: temperatura rectal (círculos), apetito (cuadrados) y signos respiratorios (triángulos), de cerdos infectados con <i>A. pleuropneumoniae</i> y tratados con enrofloxacina (símbolos blancos) o dejados sin tratamiento (símbolos negros).	114
Figura 2	Niveles de IL-6 (a), SAA (b) y Hp (c) en sueros obtenidos de cerdos. Los cerdos fueron infectados el día 0 con <i>A. pleuropneumoniae</i> y tratados con enrofloxacina (triángulos sombreados) o dejados sin tratamiento (cuadros negros). Los cerdos control (círculos blancos) no estuvieron ni infectados ni tratados. Los cerdos tratados fueron inyectados con enrofloxacina (2.5 mg/kg de peso vivo) una vez al día por tres días empezando a las 20 horas post-infección.	115
Figura 3	Niveles séricos de haptoglobina (A), proteína C reactiva (B) y Pig-MAP (C) después de un desafío con <i>Actinobacillus pleuropneumoniae</i> (Ap) en tres cerdos. El desafío fue en el día 20 con las siguientes dosis: ●: cerdo 1; $10^9$ UFC/ml sc., 2 x 2 ml; ■: cerdo 2; $10^6$ UFC /ml sc., 2 x 2 ml; ▲: cerdo 3; solución salina esteril, 2 x 2 ml.	117
Figura 4	Concentraciones séricas de haptoglobina (Hp) de cerdos con o sin neumonía enzoótica (EP) y pleuroneumonía enzoótica (PL).	119
Figura 5	Niveles séricos de haptoglobina de cerdos infectados experimentalmente con el virus del PRRS.	120
Figura 6	Relación entre los niveles séricos de haptoglobina, con la viremia y anticuerpos de cerdos provenientes de una piara infectada con el virus del PRRS.	121
Figura 7	Temperatura rectal de cerdos inoculados por vía oral con $3 \times 10^9$ UFC de <i>S. typhimurium</i> o con medio de cultivo estéril (control).	122

Figura 8	Ganancia diaria de peso de cerdos inoculados oralmente con $3 \times 10^9$ UFC de <i>S. typhimurium</i> o con medio de cultivo estéril.	123
Figura 9	Consumo diario de alimento, de cerdos inoculados oralmente con $3 \times 10^9$ UFC de <i>S. typhimurium</i> o con medio de cultivo estéril.	124
Figura 10	Concentraciones plasmáticas de cortisol en cerdos inoculados oralmente con $3 \times 10^9$ UFC de <i>S. typhimurium</i> o con medio de cultivo estéril. Los superíndices denota las diferencias entre los tratamientos ( <sup>a</sup> P<.05; <sup>b</sup> P<.001).	125
Figura 11	Concentraciones plasmáticas del factor de crecimiento insulínico tipo 1(IGF-1) en cerdos inoculados oralmente con $3 \times 10^9$ UFC de <i>S. typhimurium</i> o con medio de cultivo estéril. Los superíndices denotan las diferencias entre los tratamientos ( <sup>a</sup> P<.05; <sup>b</sup> P<.01; <sup>c</sup> P<.001).	126
Figura 12	Concentraciones sericas de haptoglobina en cerdos alimentados con distintas dietas: sin antimicrobiano (control), carbadox, mananligosacaridos (Mannan), y clorato de sodio (Chlorate). Barras sin letra en común difieren (P < 0.05).	127
Figura 13	Concentraciones sericas de cortisol ( $\mu\text{g/dL}$ ) de -1 a 24 horas post-ingestión de <i>E. coli</i> en 12 cerdos canalizados via yugular (n= 6 cerdos/grupo).	128
Figura 14	Concentraciones sericas de haptoglobina (mg/ml) de -1 a 24 horas post-ingestión de <i>E. coli</i> en 12 cerdos canalizados via yugular (n= 6 cerdos/grupo).	129
Figura 15	Cambios en la proteína C-reactiva (CRP), los datos presentados representan la respuesta de CRP (mg/ml) en comparación con el tiempo 0 (calculado por sustracción de los valores del tiempo 0 de los valores de cada tiempo) en 12 cerdos canalizados via yugular (n= 6 cerdos/grupo)	130
Figura 16	Concentraciones de CRP (A), SAA (B), Hp (C), Pig-MAP (D) y Apo A-I (E) en suero de cerdos en varios puntos de tiempo antes y después de la inoculación s.c con <i>S. suis</i> .	131

Figura 17	Valores medios semanales para las concentraciones y pesos de los cerdos criados en una granja comercial. Grupo 1 Los valores promedio mas altos.	132
Figura 18	Valores medios semanales para las concentraciones y pesos de los cerdos criados en una granja comercial. Grupo 2 Los valores promedio intermedios.	133
Figura 19	Valores medios semanales para las concentraciones y pesos de los cerdos criados en una granja comercial. Grupo 3 Los valores promedio mas bajos.	134
Figura 20	Concentración media de haptoglobina (Hp mg/dL) (0, 1, 2, 3, y 4 semanas post-destete en cerdos de 14 y 21 días de edad expuestos a diferentes factores estresantes como: destete, densidad de corral, y espacio de comedero (n= 128).	135
Figura 21	Gran media de la concentración sérica de haptoglobina (Hp mg/dL) (Semanas 1-4 post-destete) en cerdos de 14 y 21 días de edad expuestos a diferentes factores estresantes como: destete, densidad de corral, y espacio de comedero (n= 128).	136
Figura 22	Ganancia diaria de peso (Kg/día) en cerdos de 14 y 21 días de edad expuestos a diferentes factores estresantes como: destete, densidad de corral, y espacio de comedero (n= 128).	137
Figura 23	Curso en el tiempo de las concentraciones de (a) Pig-MAP, (b) SAA, (c) haptoglobina y (d) CRP. AL: animales control alimentación <i>ad libitum</i> . DIS: animales alimentados siguiendo un patrón desordenado de administración del alimento.	138
Figura 24	Concentraciones séricas de (a) proteína C-reactiva, (b) amiloide sérico A y (c) haptoglobina en cerdos agrupados en tres grupos (Grupo 1, 2, y 3). La media esta marcada con una línea. La caja muestra los percentiles 25 y 75. Los extremos muestran los valores máximos y mínimos.	139
Figura 25	Concentraciones medias de cortisol en saliva (ng/ml) $\pm$ SE de cerdas alojadas en grupos (grupo, n= 8) o en jaula (jaula, n= 16) durante la gestación y en jaulas durante el parto y lactación.	140

Figura 26	Concentraciones medias de fibrinógeno (mg/dl) $\pm$ SE de cerdas alojadas en grupos (grupo, n= 8) o en jaula (jaula, n= 16) durante la gestación y en jaulas durante el parto y lactación. Efecto tiempo (P < 0.001). No hubo efecto por tratamiento (P > 0.10).	141
Figura 27	Concentración media de la haptoglobina ( $\mu$ g/ml) $\pm$ SE de cerdas alojadas en grupos (grupo, n= 8) o en jaula (jaula, n= 16) durante la gestación y en jaulas durante el parto y lactación. Efecto tiempo (P < 0.001). No hubo efecto por tratamiento (P > 0.10).	142
Figura 28	Concentración media de la $\alpha_1$ -glicoproteína ácida ( $\mu$ g/ml) $\pm$ SE de cerdas alojadas en grupos (grupo, n= 8) o en jaula (jaula, n= 16) durante la gestación y en jaulas durante el parto y lactación.	143

## RESUMEN

MORENO GARCÍA FRANCISCO ADRIÁN. Uso de las proteínas de fase aguda en la evaluación sanitaria de la piara porcina: estudio de revisión. (Bajo la dirección de: MVZ, Ph. D. Antonio Morilla González y MVZ, M.C. Rosalba Carreón Nápoles).

En la actualidad el consumidor está preocupado en tener productos inocuos; por lo cual y para generar mayor confianza en el producto final, se ha recurrido al uso de bio-marcadores, como las proteínas de fase aguda; debido a ello se decidió realizar un estudio de revisión de libros y revistas científicas que se hubieran publicado en el período del año 1990 a 2008 con el fin de conocer más sobre el potencial de las proteínas de fase aguda.

Las proteínas de fase aguda son un grupo de proteínas sintetizadas por el hígado en respuesta al estímulo de citocinas que se producen durante la respuesta de fase aguda de la inflamación, cuya función es tener una apropiada respuesta inmune inespecífica que permita restablecer la homeostasis.

Para la medición de estas se han usado métodos inmunológicos, debido a que los anticuerpos ofrecen una alta afinidad y especificidad en los estudios realizados en diferentes procesos patológicos; de los cuales se ha concluido que pueden ser potenciales marcadores del bienestar animal y su aplicación en el diagnóstico y prevención de enfermedades, así como también en el diseño de programas de control e incluso para identificar riesgos potenciales para la salud pública en la inspección de la canal en rastros.

## 1. INTRODUCCIÓN

En la actualidad el consumidor está preocupado en tener productos inocuos, por lo que el productor y el veterinario tienen más en cuenta la sanidad de los animales; criterios medioambientales, y de bienestar animal, se incluyen en los criterios de producción para generar mayor confianza en el producto final.

Con el fin de cumplir con las exigencias de los consumidores, se han desarrollado sistemas para determinar que los animales en las granjas, se críen sanos en condiciones de bienestar, y que sus productos y subproductos sean inocuos para los humanos (1, 2).

Durante el proceso productivo, los cerdos están sometidos a numerosos factores que pueden inducir estrés, generándose más pérdidas cuando actúan diferentes factores estresantes en combinación, debido al carácter aditivo de los efectos. Entre los factores considerados se encuentran: la relación social de los cerdos dentro de su propia camada o al ser mezclados con otros grupos, los factores ambientales relacionados con las características de la propia unidad de producción como son: pautas de alimentación, espacio por animal, condiciones de manejo, temperatura ambiental, entre otros y las afectaciones a su salud (3).

Por ello y para mantener la piara libre de microorganismos patógenos, existen sistemas de diagnóstico, control y erradicación de los microorganismos potencialmente patógenos. Para esto se ha recurrido a los nuevos sistemas de diagnóstico que permiten determinar cómo circulan los microorganismos en la población, cortar los ciclos e incluso eliminarlos. Los sistemas de diagnóstico



permiten determinar qué tan infectada está una población y cuál podría ser su desempeño productivo (1, 2).

Para evaluar el estado de salud y de bienestar de los animales, en la última década se ha hecho investigación sobre el uso de marcadores fisiológicos o biomarcadores, como las proteínas de fase aguda (PFAs) (1, 2).

Muchas PFAs han sido estudiadas en cerdos y sus valores se incrementan después de una infección natural o experimental. Por esta razón, la determinación de las concentraciones séricas de PFAs, podría ser de particular valor como un indicador temprano de enfermedades clínicas o sub-clínicas, e incluso para identificar riesgos potenciales para la salud pública en la inspección de la canal en rastros (4, 5, 6,7).

Para poder determinar el valor práctico, es necesario establecer los valores de referencia de las concentraciones de estas proteínas en estado normal, tomando en cuenta factores como el sexo y edad de la piara (5, 6, 8).

De este modo, los animales que tengan un proceso de enfermedad, estrés agudo y/o crónico debido a los sistemas de producción, nivel sanitario de la explotación, enfermedades clínicas o sub-clínicas, podrían ser identificados (5, 6). Las determinaciones de PFAs permitirían evaluar y mejorar los sistemas productivos e identificar los factores o procedimientos que provocan mayor estrés en los cerdos (8, 9).

En los rastros las PFAs pueden ser utilizadas durante la inspección *ante* o *postmortem* para determinar la bondad higiénico-sanitaria de los animales y la

calidad de su carne; de esta forma se aumentaría significativamente la calidad de la inspección sanitaria de los animales y sus productos, previ6 a la entrada a la cadena de consumo humano (3).

Por todo ello, se ha realizado una revisi6n bibliogr6fica, con el fin de conocer en qu6 contexto y aspectos se han trabajado las PFAs. La informaci6n ser6 de utilidad para conocer sus usos y aplicaciones en la producci6n porcina.

## **2. REVISIÓN SISTEMÁTICA**

La literatura que se revisó fue la obtenida en libros y revistas científicas que se publicaron en el período del año 1990 a 2008, los cuales fueron consultados en la biblioteca de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia y en la del Instituto de Investigaciones Biomédicas de la UNAM. Publicaciones científicas como: Preventive Veterinary Medicine, Veterinary Record, Research in Veterinary Science, The Veterinary Journal, Veterinary Immunology and Immunopathology, Livestock Production Science, Pig News and Information y The Pig Journal, fueron consultadas por medio de buscadores especializados en la red como: ScienceDirect, PubMed y HighWire Press. También fue tomada en cuenta la información obtenida de memorias de congresos especializados en el tema y/o en la especie.

La información que se incluyó fue aquella que tuvo mayor relevancia, tomando en cuenta los puntos más importantes y de acuerdo a ellos se organizó la información.

### **3. ANÁLISIS DE LA INFORMACIÓN**

#### **3.1 Características de las proteínas de fase aguda**

Las proteínas de fase aguda (PFAs) son un grupo de proteínas sintetizadas por el hígado en respuesta al estímulo de IL-1, TNF $\alpha$  e IL-6, que son citocinas que se producen como respuesta a la inflamación y son liberadas a la circulación sanguínea (1,10, 11, 12).

La función de las PFAs es tener una mayor respuesta inmune inespecífica, por lo que se han utilizado para determinar si existe inflamación y en consecuencia determinar el estado de salud en los animales. (2, 13, 14).

En los cerdos las PFAs más estudiadas son la, haptoglobina (Hp), Proteína C-reactiva (CRP),  $\alpha$ -1-glicoproteína ácida (AGP), amiloide sérico A (SAA), y la proteína mayor de fase aguda del cerdo (Pig-MAP) que son conocidas como PFAs positivas (3, 14, 15, 16, 17, 18, 19).

La albúmina, transferrina y transtiretina (TTR) se consideran PFAs negativas, ya que disminuyen sus concentraciones durante la respuesta de fase aguda (10, 15, 17).

En el cuadro 1 se presenta su función (20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29).

**Cuadro 1. Función de las principales proteínas de fase aguda en el cerdo.**

Proteínas de fase aguda	Función	Referencia
Haptoglobina (Hp)	Se une a la hemoglobina libre en el plasma que se libera de los eritrocitos evitando la actividad de oxidación; el complejo haptoglobina-hemoglobina es eliminado por el sistema fagocítico mononuclear, principalmente del bazo.	Chen <i>et al.</i> , 2003.  Klaus W <i>et al.</i> , 2003.
Proteína C-reactiva (CRP)	Se une a la fosfocolina de las bacterias y ayuda a que se fije el complemento; actúa como opsonina debido a que los macrófagos tienen el receptor para la proteína C reactiva.	Johnson <i>et al.</i> , 1997.  Petersen <i>et al.</i> , 2004.
$\alpha$ -1-glicoproteína ácida (AGP)	Se une y transporta moléculas lipofílicas básicas o neutras.	Murata H <i>et al.</i> , 2004.
Amiloide Sérico A (SAA)	Transporte de lípidos y colesterol al hígado para su posterior secreción en forma de bilis. Recluta células inmunes a los sitios inflamatorios e induce enzimas que degradan la matriz extracelular.	Hari-Dass <i>et al.</i> , 2005.  Mackienwickz A <i>et al.</i> , 1993.
Proteína mayor de fase aguda del cerdo (Pig-MAP)	Se ha sugerido que podría estar implicada en fenómenos de estabilización de la matriz extracelular, y desempeñar un papel importante durante el desarrollo embrionario, y en los procesos de regeneración de órganos dañados. También se ha propuesto que la Inhibidor de tripsina inter-alfa de cadena pesada (ITIH4) podría actuar como una proteína antiinflamatoria, puesto que inhibe la polimerización de actina, y la actividad fagocítica de las células polimorfonucleares.	Gonzales-Ramón N <i>et al.</i> , 2000.  Geisert RD <i>et al.</i> , 2003.  Piñeiro M <i>et al.</i> , 2004

### **3.2 Inducción de las proteínas de fase aguda**

El término proteínas de fase aguda fue introducido en 1941 por Abernethy y Avery, quienes describieron que en el suero de pacientes con procesos infecciosos febriles, contenían una proteína, (30) y posteriormente se encontró que se producían otras PFAs como respuesta al daño tisular (30, 31).

La respuesta de fase aguda (RFA) es una reacción compleja no específica del organismo (22, 30, 31, 32). El propósito de la RFA es prevenir el daño al órgano, aislar y destruir el microorganismo infeccioso, para que el órgano retorne a su función normal (18, 24, 31, 32, 33).

La RFA sistémica incluye cambios neurológicos, endocrinos y metabólicos (31, 34, 35) que se manifiestan como fiebre, leucocitosis (31, 32) degradación proteica del músculo e incremento de la síntesis hepática de las proteínas de fase aguda (22, 36, 37).

Las PFAs se producen en el hígado como respuesta al estímulo de las citocinas inflamatorias IL-1, IL-6, TNF- $\alpha$ , glucocorticoides, aminas vasoactivas, productos del complemento, y de la cascada de la coagulación. Estas citocinas son secretadas principalmente por macrófagos durante la inflamación, producida por diversas causas como los traumatismos, infecciones y estrés (30, 31, 38, 39).

Las citocinas estimulan la expresión de genes de fase aguda, mientras que los glucocorticoides y factores de crecimiento funcionan más como moduladores de la acción de citocinas (15, 19, 31, 38).

La activación del eje hipotálamo-pituitaria-adrenal (HPA) por señales de estrés puede desencadenar producción sistémica o local de citocinas, de ese modo se aumenta la síntesis hepática de PFAs y su liberación a la circulación sanguínea (32, 40, 41).

Las citocinas pueden actuar localmente para amplificar la respuesta inmune celular, pero también sistémicamente para cambiar el comportamiento metabólico, y secreciones neuroendocrinas. (22, 36, 37, 42).

Los glucocorticoides, los cuales son sintetizados a través del eje-HPA por la acción de IL-1, tienen una acción doble: aumentan los efectos de otros mediadores sobre los hepatocitos y al mismo tiempo disminuyen la producción de citocinas pro-inflamatorias, y aumentan las citocinas antiinflamatorias (24). A la inversa, las citocinas modulan la producción de glucocorticoides por el eje-HPA e inducen un aumento en la función adrenal, la que a su vez suprime la producción de citocinas por retroalimentación negativa (12, 17, 32, 41).

Los aminoácidos liberados de la degradación de proteínas musculares durante la inflamación proveen combustible para la síntesis hepática de PFAs. La citocina IL-6 actúa directamente sobre los hepatocitos para estimular la utilización de aminoácidos y síntesis de una amplia variedad de PFAs (36).

De los aminoácidos usados en la síntesis proteica, al menos 60% son derivados de la degradación de proteínas corporales. Entonces, IL-1, IL-6, y TNF- $\alpha$  son parte de una cadena que inherentemente liga la degradación de proteínas en el músculo con la síntesis de las PFAs (22, 36, 43, 44).

El mecanismo intracelular por el cual las citocinas estimulan la producción de PFAs por el hígado sería el siguiente: Las señales transmitidas de los receptores IL-6 (IL-6R) y/o IL-1 (IL-1RI) resultan en la fosforilación del factor de transcripción NF-IL6, el que después transloca al núcleo, donde media la transcripción de genes de fase aguda, incluyendo los genes NF-IL6 $\beta$ . El factor de transcripción NF- $\kappa$ B reside en el citoplasma, asociado con su inhibidor I $\kappa$ B. La transducción de señales ya sea de IL-1RI o del receptor de TNF- $\alpha$  (TNF-R) activa la quinasa I $\kappa$ B que fosforila I $\kappa$ B (P- I $\kappa$ B), y esta se degrada por la ubiquitin vía proteosoma. El recién liberado NF- $\kappa$ B se trasloca al núcleo, donde se promueve la transcripción de genes de PFAs (19, 42, 45, 46).



### **3.3 Estructura y función de las proteínas de fase aguda que se han evaluado en porcinos**

#### **3.3.1 Proteína C-Reactiva (CRP)**

Las primeras descripciones de la reactividad de la CRP, las cuales llevaron a su descubrimiento y nombramiento fueron por el liposacárido C de la pared celular del neumococo (PnC). La reacción de precipitación de la CRP y PnC requiere iones de calcio (26).

Basados en su estructura y su dependencia específica de ligarse al calcio, CRP es clasificada como un pentraxin. Su estructura primaria consta de cinco subunidades idénticas ligadas no covalentemente, cada subunidad de CRP consiste de 206 aminoácidos residuales con un peso molecular de 23,017. La CRP porcina consta de cinco subunidades de 23,4 kD (kilodaltons) cada una, siendo ligeramente superior en peso molecular a la humana (que presenta subunidades de 21,5 kD). Parece ser que la CRP porcina está muy relacionada desde el punto de vista inmunológico con la CRP humana, ya que se ha demostrado reactividad cruzada entre anticuerpos y antígenos (22, 23).

La significancia biológica del sitio de unión PCh (fosfocolina) es remarcada por la amplia distribución de este grupo en membranas de células eucariotas y paredes de células procariotas. En tejidos dañados, CRP interactúa con el material nuclear y probablemente ayuda en su eliminación a través de interacciones con el sistema del complemento y células del sistema fagocítico (26).

La activación del complemento (C) por CRP es a través de la vía clásica. La secuencia de la vía clásica comienza con la fijación de C1, por medio de C1q, al Fc, la parte que no se une al antígeno de la molécula de anticuerpo tras la interacción antígeno-anticuerpo; la subunidad C1q es por donde se fija al extremo Fc del anticuerpo. La activación de C1q provoca que una molécula de C1r del complejo C1qr2s2 pierda por auto-catálisis un fragmento de bajo peso molecular, quedando activada. Esta molécula activa a la otra molécula de C1r. Las dos moléculas de C1r atacan a las dos moléculas de C1s liberando sendos fragmentos de bajo peso molecular, dejando expuestos sus dominios catalíticos. La activación de C1 es  $Ca^{++}$  dependiente. De esta forma C1s se convierte en una enzima del tipo serin-proteasa cuyo substrato son los factores C4 y C2 que se desdoblan en fragmentos a y b. C2b y C4b forman otra C3 convertasa; que genera sustancias relacionadas a la defensa del hospedero, entre estas se incluyen a la anafilatoxinas C3a y C4a y las opsoninas C4b y C3b. Sin embargo, CRP no parece ser viable para llevar a la formación eficiente de la C5 convertasa. Entonces, la activación del complemento puede no resultar en la generación del factor quimiotáctico C5a y el complejo de ataque a la membrana C5b-9 (26, 47).

CRP también ha sido postulado que juega un rol protector a través de la inhibición del factor de inhibición plaquetario (PAF). El efecto fue atribuido a la inhibición de la fijación del PAF con los neutrófilos. También se demostró las propiedades protectoras de la CRP de los efectos de la lisolecitina (26, 47).

Por otro lado, la CRP induce la síntesis de IL-1, TNF- $\alpha$ , e IL-6, lo que podría sugerir que una función es la de amplificación de la respuesta inflamatoria. Sin

embargo, los estudios han demostrado que CRP es un inductor del antagonista de IL-1 (42, 45).

Estos hallazgos indican que la CRP puede tener una doble actividad, la de, amplificar la respuesta inflamatoria cuando los agentes patógenos se encuentran dentro del hospedero e inhibiendo la respuesta inflamatoria cuando el patógeno ha sido controlado (45).

Por lo tanto las funciones de la CRP están relacionadas con su habilidad para reconocer específicamente patógenos extraños y células dañadas del hospedero e iniciar su eliminación por interacción con sistemas efectores humorales y celulares en la sangre. CRP se une a células fagocíticas en una específica y reversible manera, y ligado a una respuesta biológica en la forma de una señal fagocítica o tumoricida (26).

El valor de las mediciones séricas de la CRP, el clásico reactante de fase aguda, para monitorear está bien establecido. En particular la CRP es un marcador muy útil en los procesos infecciosos sub-clínicos y es superior a las otras PFA's y que la tasa de sedimentación de eritrocitos. Aunque la respuesta de fase aguda es inespecífica y por si misma no tiene significancia diagnóstica, la sensibilidad, velocidad y dinámica de la respuesta de CRP a la mayoría de las formas de infección, inflamación y daño tisular se combinan para hacer un índice excepcional y útil de la actividad de la enfermedad y respuesta a la terapia (48).

### 3.3.2 Amiloide Sérico A (SAA)

El amiloide sérico A (SAA) es una apolipoproteína perteneciente a lipoproteínas de alta densidad (HDL). La mayoría del SAA en plasma es sintetizada en los hepatocitos, bajo regulación transcripcional por citocinas, especialmente IL-1, IL-6, y TNF- $\alpha$  (49).

La proteína SAA tiene un peso molecular de 12-14 kDa; y consta de 104 a 112 aminoácidos y es obtenida por división proteolítica de SAAL (L = liver) (12, 24, 46). La estructura primaria de SAA ha sido ahora determinada, por análisis de secuencia de aminoácidos y por la deducción de la secuencia de nucleótidos de los genes de SAA (26).

Varias funciones de una naturaleza inhibitoria han sido propuestas para SAA. Fue reportado que la actividad de las células NK fue suprimida por la SAA, la inhibición de la proliferación de linfocitos y crecimiento de cultivos celulares HeLa y MRC, y la inhibición de la esterificación del colesterol plasmático. También ha sido reportada la inhibición de la agregación plaquetaria, inhibición del tromboxano B<sub>2</sub>, generación y liberación de serotonina por plaquetas activadas por trombina, e inhibición del crecimiento y potenciación de la diferenciación de las células mieloides leucémicas (26).

La mayor función de SAA es el transporte y metabolismo de lípidos, por lo cual esta ligada a las lipoproteínas, especialmente a las HDL. SAA podría actuar en el transporte intra y extracelular de colesterol y otros lípidos así como enzima en la biosíntesis de esteroides y también podría ayudar en la remoción de residuos

lipídicos que resultan de los procesos de destrucción celular. Por ejemplo la remoción del colesterol recolectado por los macrófagos en los lugares de destrucción tisular y reutilizado para la proliferación de las células en las zonas de reparación y en los sitios de la excreción de colesterol (25, 26, 48, 49).

### **3.3.3 Haptoglobina (Hp)**

La Hp plasmática es una  $\alpha_2$ -glicoproteína ácida determinada genéticamente que se combina específicamente con la hemoglobina, mostrando actividad de una “verdadera” peroxidasa (26).

Hiss *et al.* (2003) purificaron la Hp porcina y encontraron que está integrada por un tetrámero de dos cadenas ligeras idénticas de 9.1 kDa, (cadenas alfa) y dos cadenas pesadas también idénticas de 40 kD que están glicosiladas (cadenas beta, cada una de 245 aminoácidos) por un puente disulfuro. Esta estructura es similar a la Hp humana del subtipo 1-1 (la Hp humana tienen tres subtipos Hp 1-1, Hp 2-1, y Hp 2-2) (12, 20, 50).

Todos los carbohidratos contenidos en la Hp, los cuales la constituyen aproximadamente 20%, se encuentran en las cadenas  $\beta$ . Las cadenas  $\beta$  juegan un rol especial en las propiedades biológicas de la molécula de la Hp. Las regiones 130 a 137 de las cadenas  $\beta$ , están implicadas en el contacto con la hemoglobina (26).

Ha sido generalmente aceptado que el rol de la Hp en el metabolismo de la hemoglobina es proteger los riñones de la destrucción tisular por la unión a la

hemoglobina libre seguido de la hemólisis (26). La unión de la Hp a la hemoglobina es una de las más fuertes y conocidas interacciones no covalentes. La hemoglobina que ha sido liberada en el torrente sanguíneo por la lisis de eritrocitos es fijada efectivamente por la Hp. Este mecanismo previene el paso de la hemoglobina a través de los glomérulos y/o su deposición en los túbulos renales; por esta razón el hierro permanece disponible para su posterior uso metabólico. Sin embargo, el proceso es catabolizado en el sistema reticuloendotelial del hígado; por esta razón, la Hp no puede ser considerada como una proteína reguladora de transporte (ej. Trasferrina para el hierro, hemopexina para grupo heme, etc.) (21, 26).

También la Hp bloquea la respuesta de los neutrófilos hacia a la infección y a la inflamación; los neutrófilos poseen sitios específicos de fijación para la Hp (21, 26). Además estimula la formación de prostaglandina E y potencia sinérgicamente los efectos de la bradicinina y trombina, y previene la degradación oxidativa de los lípidos en el sitio de inflamación (26).

### **3.3.4 $\alpha_1$ -glicoproteína ácida (AGP)**

$\alpha_1$ -glicoproteína ácida, tiene un punto isoeléctrico de 2.7 y un punto isoiónico de 3.5, es una de las mayores proteínas ácidas en la sangre. Tiene un peso molecular de 40 kDa, con una alta proporción de carbohidratos (26, 48).

Es sintetizada principalmente en el hígado, pero también por los linfocitos y granulocitos, esto ha sugerido que los leucocitos pueden contribuir

significativamente a la síntesis de  $\alpha_1$ -AGP durante la respuesta de fase aguda (26).

La  $\alpha_1$ -AGP inhibe marcadamente la respuesta proliferativa de los linfocitos periféricos a la fitohemaglutinación, y la blastogénesis inducida por concanavalin A (26) por lo que es posible que pueda contribuir a limitar, modular, o dirigir la respuesta inmune del hospedero (26).

Varios estudios sobre la interacción de la  $\alpha_1$ -AGP con el sistema de coagulación sanguínea han mostrado que puede ser un potente inhibidor de la activación plaquetaria; así como del crecimiento de las células tumorales (26).

También es muy bien conocida la habilidad de la  $\alpha_1$ -AGP para unirse y transportar una amplia variedad de drogas, esta habilidad es de relevancia en la farmacología clínica (26).

### **3.3.5 Pig-MAP**

El Pig-MAP o proteína principal de fase aguda en los cerdos es una PFA. Esta proteína pertenece a la familia del inhibidor de las proteínas inter-alfa-tripsina (ITI) y es homóloga a la proteína humana sensible a la calicreína plasmática (PK-120 o IHRP) y tiene un peso molecular de 120kDa (27, 45, 51, 52, 53).

Se detectan en los hepatocitos niveles elevados del ARN mensajero de Pig-MAP a las 6 horas después de la estimulación con IL-6, mientras que se detecta en el suero 24 horas después. Este retraso podrá corresponder al tiempo necesario para que la célula sintetice y libere la proteína en el medio extracelular (27).

La función de la Pig-MAP podría ser la de un sustrato de la calicreína. También podría estar implicada en fenómenos de estabilización de la matriz extracelular, en el desarrollo embrionario, y en los procesos de regeneración de órganos dañados. También podría actuar como una proteína antiinflamatoria, puesto que inhibe la polimerización de actina, y la actividad fagocítica de las células polimorfonucleares (28, 29, 53, 54, 55).

### **3.4 Métodos de evaluación en el suero de los cerdos**

En general, se van a usar dos grupos principales de métodos para las determinaciones de las PFAs (19). Consisten en métodos espectrofotométricos basados en las propiedades bioquímicas de la proteína y métodos inmunológicos basados en reacciones antígeno-anticuerpo (56, 57).

Desde un punto de vista práctico los métodos inmunológicos son los más versátiles. Un requisito fundamental para cualquier inmunoensayo es tener el reactivo que específicamente reconozca y se una al analito de interés. Los anticuerpos, debido a su alta versatilidad y especificidad en el reconocimiento molecular, son ideales como elementos de reconocimiento en los inmunoensayos. Los anticuerpos ofrecen una alta afinidad y especificidad, en las más importantes características de los elementos de reconocimiento, que a menudo son suficientes para permitir la medición de moléculas poco abundantes en mezclas complejas, como por ejemplo muestras de sueros sin un paso previo de purificación (26, 56).

El uso de anticuerpos específicos de especie está altamente recomendado; y los ensayos basados en anticuerpos obtenidos contra proteínas de otras especies



diferentes necesitan ser validados para cada especie, teniéndose que repetir el proceso de validación para cada lote de anticuerpo (57). De forma adicional, se recomienda que los estándares, (obtenidos a partir de proteína purificada o basados en muestras de suero de fase aguda) sean de la misma especie que se está investigando. En general, estos métodos se suelen adaptar al sistema de ELISA o a auto-analizadores bioquímicos (30).

Para laboratorios que hasta el momento no han podido implementar métodos para la determinación de las PFAs, puede ser útil indicar que la mayoría de las PFAs migran a las áreas de  $\alpha$  y  $\beta$ -globulinas. De esta forma, la electroforesis de rutina en agarosa o en acetato de celulosa puede ser usada para identificar de forma global cambios en las PFAs mediante aumentos en las fracciones  $\alpha$  y/o  $\beta$  que se producen en casos de inflamación. Sin embargo, este método es mucho menos sensible que los análisis de PFAs individuales (24).

La medición de las PFAs positivas en combinación con la medición de las negativas y el cálculo de un índice resulta en un método más sensible para analizar el estado nutricional e inflamatorio de un animal (58).

El índice indicador nutricional y fase aguda por sus siglas en inglés (NAPI) se calcula como una combinación de las proteínas de fase aguda negativas y positivas, de la siguiente manera (58):

$$(N) \text{ API} = \frac{\text{Valor de las PFA positivas rápidas} \times \text{Valor de las PFA positivas lentas}}{\text{Valor de las PFA negativas rápidas} \times \text{Valor de las PFA negativas}}$$

El índice ha sido usado en el ganado lechero. Dicho índice mejora la sensibilidad y especificidad en comparación con la medición individual de las PFAs, y es mejor para detectar animales enfermos en poblaciones de animales aparentemente sanos; como fue mostrado en el estudio realizado por Toussaint *et al.*, (2004) en ganado lechero y cerdos infectados experimentalmente con *Streptococcus suis* (44, 58).

El uso de los kits comerciales disponibles para la determinación de PFAs sería adecuado en muestras porcinas, ya que proveen un buen desempeño, límites de detección, y permiten discriminar entre muestras sanas y patológicas. Sin embargo, más estudios y modificaciones a las técnicas de los ensayos serían necesarias para mejorar la precisión de los métodos inmunológicos, especialmente en bajas concentraciones de PFAs (4).

### **3.4.1 Proteína C reactiva (CRP)**

La CRP se suele determinar en el cerdo por inmunoensayo enzimático (ELISA), que está disponible de manera comercial. Recientemente se han validado dos nuevos métodos automatizados de uso humano adaptados a auto-analizadores bioquímicos que proporcionan resultados satisfactorios al analizar muestras de cerdo (24).

Parra *et al.*, (2004) evaluaron y validaron un ensayo de inmunofluorometría de tiempo resuelto (TR-IFMA) para la medición de CRP en saliva de perros. El ensayo fue capaz de detectar diferencias significantes entre niveles salivares de CRP en perros sanos y perros con procesos inflamatorios. En conclusión, la medición de CRP en muestras de saliva de cerdo por TR-IFMA, podría ser usada como una alternativa o técnica complementaria para la determinación de CRP en muestras sanguíneas (59).

Bürger *et al.*, (1998) emplearon para medir las concentraciones séricas de CRP en cerdos, la cromatografía de afinidad y cromatografía de intercambio de iones. Los valores normales de cerdos sanos, y criados bajo buenas condiciones, fueron de 8.35 mg/L con un rango normal arriba de 16.8 mg/L. Hubo una gran elevación de la CRP durante el período de estimulación en comparación con el grupo control. Cuando el estímulo desapareció, los valores declinaron hasta alcanzar niveles normales (60).

### **3.4.2 Amiloide A Sérico (SAA)**

Aunque en humanos esta proteína ha mostrado una sensibilidad, y una velocidad de respuesta comparable a la CRP, su uso en animales ha estado bastante limitado debido a las dificultades en la purificación y cuantificación, probablemente porque es una apolipoproteína hidrofóbica que forma parte de las lipoproteínas de alta densidad (HDL) (49).

El método más usado para los estudios clínicos ha sido el radioinmunoanálisis (49).

### 3.4.3 Haptoglobina (Hp)

Los métodos para la determinación de Hp se pueden dividir en dos grupos principales (24, 61):

Métodos espectrofotométricos:

Se han descrito varios métodos basados en la capacidad de la Hp para unirse a la hemoglobina y formar complejos Hp-Hb, que:

- 1.- Alteran la absorbancia característica de la Hb en proporción a la concentración de Hp en la muestra de suero (27).
- 2.- Preservan la actividad peroxidasa en un pH ácido que puede ser detectada y cuantificada. De esta forma, se ha desarrollado un método espectrofotométrico automatizado basado en la actividad peroxidasa de los complejos Hp-Hb en el que la interferencia de la albúmina sérica ha sido eliminada y que puede ser ampliado a múltiples especies (57). Este método ha dado lugar a la existencia de un kit comercial disponible para los análisis de rutina, que en estudios de validación en suero porcino ha proporcionado resultados satisfactorios (5).

Métodos inmunológicos:

Inmunoensayos nefelométricos: En esta prueba se mide la precipitación de los complejos antígeno-anticuerpo. Se utilizan anticuerpos contra la Hp humana (24, 48, 49, 59, 60, 62, 63, 64, 65).

La inmunofluorometría a tiempo resuelto (TR-IFMA, por sus siglas en inglés). Es una prueba rápida y ultra-sensible para la medición de varias hormonas animales y humanas y también para la detección de drogas, anticuerpos específicos, y marcadores de cáncer. Otra posible aplicación es la determinación de las PFAs (64). En un estudio realizado por Parra *et al.*, (2004) se pudo utilizar la TR-IFMA en la medición de Hp en suero, sangre completa y saliva (59).

#### **3.4.4 $\alpha_1$ -glicoproteína ácida (AGP)**

Existe un método comercial basado en la inmunodifusión radial (24). Y recientemente, Tecles *et al.*, (2006) han desarrollado y validado un ensayo automatizado para determinar la AGP en el suero porcino, que proporciona unos resultados altamente satisfactorios y que permite detectar aumentos de un rango entre 2-3 veces de esta proteína de fase aguda en cerdos afectados por distintas patologías (4).

#### **3.4.5 Pig-MAP**

Actualmente se determina por métodos inmunológicos con anticuerpos específicos, y recientemente ha salido al mercado un sistema ELISA para su cuantificación (24, 27).

En el cuadro 2 se presentan los valores normales de las proteínas de fase aguda en la especie porcina (7, 40, 48, 50, 60, 64, 66, 67, 68, 69).

**Cuadro 2. Valores normales de proteínas de fase aguda en el cerdo.**

Proteína de Fase aguda	Concentración	Método	Referencia
Proteína C reactiva (mg/L)	9.0 ± 6.1	ELISA competitiva	Bürger <i>et al.</i> , 1998
	8.65 ± 2.82	Cromatografía por afinidad y Cromatografía de intercambio iónico	Bürger <i>et al.</i> , 1998
	10 – 30	Inmunolectroforesis cruzada e Inmunodifusión	Lampreave <i>et al.</i> , 1994
Haptoglobina	0.89 ± 0.17	Unión de Hp con la cianometahemoglobina	Hicks <i>et al.</i> , 1998
	1.6	Midiendo complejos Hp-Hb	Eckersall <i>et al.</i> , 1996
	> 1.4	Midiendo la actividad de peroxidasa de la Hp	Chen <i>et al.</i> , 2003
	0.76 ± 0.52	ELISA	Petersen <i>et al.</i> , 2001
	0.68 ± 0.39	Electroforesis	Hiss <i>et al.</i> , 2003
	1.06 ± 0.73	Inmunodifusión radial	Segalés <i>et al.</i> , 2004
α <sub>1</sub> -glicoproteína ácida	1428	Inmunodifusión radial	Ithoh <i>et al.</i> , 1993
	803.8 ± 343.8	Inmunodifusión radial	Hicks <i>et al.</i> , 1997
	300 – 600	Inmunodifusión radial	Eckersall <i>et al.</i> , 1996
Amiloide Sérico A	>19.5	Kit comercial (Phase <sup>TM</sup> Range SAA Assay, Tridelta Development Ltd., Greystones, Wicklow, Ireland)	Hulten <i>et al.</i> , 2003
Pig-Map	0.76 ± 0.34	Inmunodifusión radial	Segalés <i>et al.</i> , 2004

### **3.5 Aplicación de las proteínas de fase aguda a enfermedades.**

En animales, las investigaciones en la última década han confirmado que la medición de las PFAs en suero puede identificar la presencia de infecciones o lesiones inflamatorias, que a su vez son indicio de enfermedades. Con este fin se han realizado varios estudios encaminados a estudiar los perfiles de las PFAs en diferentes procesos patológicos.

#### **3.5.1 Enfermedades Respiratorias.**

##### **3.5.1.1 Pleuroneumonía porcina**

La pleuroneumonía porcina causada por *Actinobacillus pleuropneumoniae* es una de las más importantes enfermedades bacterianas del tracto respiratorio del cerdo. Se presenta de forma clínica y sub-clínica y provoca reducción en la producción e incremento en los costos de medicación y vacunación. La bacteria contiene factores de virulencia que son potentes inductores de las PFAs (70).

La pleuroneumonía contagiosa ha sido identificada como un marcador sensible de infecciones respiratorias y su medición nos proporciona un parámetro no específico del estado de salud en distintos procesos respiratorios (1).

Hulten *et al.*, (2003) determinaron tres marcadores de fase aguda (IL-6, SAA y Hp) en sueros de cerdos experimentalmente infectados con *A. pleuropneumoniae* y subsecuentemente tratados con Enrofloxacina (67).

La actividad de IL-6 fue medida usando un bioensayo basado en la proliferación de la línea celular B9. Las concentraciones de SAA y Hp fueron medidas usando un kit comercial (Phase™ Range SAA Assay, Tridelta Development Ltd., Greystones, Wicklow, Ireland, Phase™ Range Haptoglobin Assay, Tridelta Development Ltd.) respectivamente (67).

Todos los cerdos infectados desarrollaron signos clínicos de enfermedad como los respiratorios, incrementos en la temperatura corporal ( $>40.0^{\circ}\text{C}$ ) y pérdida de apetito (Figura 1) (67).

La actividad de IL-6 fue detectada en todos los sueros de los cerdos infectados pero no tratados ( $n=10$ ), con un valor pico medio de 32.5 U/ml, con un rango que fue de 8.5 a 50 U/ml. Cuatro de los cerdos infectados y tratados mostraron IL-6 en suero en una ocasión; con un valor pico medio de 14 U/ml, con un rango que fue de 3.0 a 40 U/ml,  $n=4$ . En el grupo control ( $n=10$ ), la actividad de IL-6 fue demostrada en un suero colectado a los 28 días post-infección con un valor de 24 U/ml (67).

SAA fue detectada en todos los sueros de los cerdos infectados pero no tratados con un valor medio de 884 mg/L, rango de 258-1250 mg/L,  $n=10$ . La más alta concentración fue registrada en las 44 horas post-infección. En 7 de los 10 cerdos infectados y tratados con enrofloxacin se encontraron valores medios de 572 mg/L, rango 168-1250 mg/L,  $n=7$ . En el grupo control no se demostró la presencia de SAA (67).



Valores de Hp por arriba de 1.0 g/L fueron detectados en los sueros de todos los cerdos infectados y no tratados con valores medios de 4.5 g/L, rango 3.2-5.8 g/L, n=10. Dos de los sueros de cerdos infectados y tratados no mostraron niveles séricos que excedieran 1.0 g/L, en los demás cerdos de este grupo tuvieron valores medios de 2.3 g/L, rango 1.0-2.8 g/L, n=8. En el grupo control, las concentraciones de Hp permanecieron por debajo de 1g/L con un rango de 0.001-0.86g/L a lo largo del período de experimentación (67).

Los datos obtenidos se representan en la Figura 2 (a, b, y c), y los datos comparando entre grupos se muestra en el Cuadro 3.

Cuadro 3. Duración y magnitud de la respuesta de fase aguda (IL-6, SAA y haptoglobina) en sueros de cerdos experimentalmente infectados con *A. pleuropneumoniae* y tratados con enrofloxacina por 3 días consecutivos, empezando a las 20 horas post-infección.

Grupos	IL-6			SAA			Hp		
	No. de cerdos positivos	Duración (días)	Valor pico (U/ml)	No. de cerdos positivos	Duración (días)	Valor pico (mg/L)	No. de cerdos positivos	Duración (días)	Valor pico (g/L)
No infectados, no tratados	0/8	-	-	0/8	-	-	0/8	-	-
Enrofloxacina	7/8	1 (1-2)	12 (2.4-28)	7/8	2 (1-3)	1141 (64-1250)	7/8	2 (1-3)	2.0 (1.1-2.6)
Infectados, no tratados	7/8	2 (1-3)	11.5 (4-59)	8/8	3 (2-7)	815 (362-1250)	8/8	12 (5-16)	4.1 (2.9-5.1)

Fuente: Hulten *et al.*, (2003)

En este estudio, la aplicación de un tratamiento temprano durante el curso de la infección con *A. pleuropneumoniae* en cerdos redujo la duración de los tres marcadores de fase aguda medidos, y redujo la máxima concentración de Hp. Entonces, estos resultados indican que la respuesta de fase aguda puede ser

usada para monitorear los efectos terapéuticos de las sustancias antimicrobianas en el cerdo (67).

Otro estudio realizado por Heegaard *et al.*, (1998) quienes inocularon a tres cerdos SPF por aerosol vía nasal con una dosis  $10^6$  UFC/ml en 20 ml con *Actinobacillus pleuropneumoniae* serotipo 5b, biotipo 1. Determinaron las concentraciones de haptoglobina (Hp), proteína C reactiva (CRP), y Pig-MAP por medio de electroforesis en geles de poliacrilamida con docecil sulfato de sodio (SDS-PAGE). Los resultados se encuentran en la Figura 3 A, B y C (61).

La Hp y la Pig-MAP, mostraron una respuesta prolongada que duro por varios días, mientras que CRP mostro una respuesta más pasajera. En el día 1, Hp y CRP fueron las que más rápido respondieron, mostrando los incrementos más grandes, y la respuesta máxima fue alcanzada en el día 2 para las tres proteínas (61).

Los niveles medios de Hp antes del desafío en los tres cerdos fueron de 0.33 mg/ml (rango: 0.19-0.52). Los niveles máximos (13 mg/ml) se alcanzaron a los 2 días post infección en uno de los cerdos y en los dos restantes al día 5 (Figura 3A) (61).

CRP mostró niveles medios antes del desafío de 43  $\mu$ g/ml (rango: 11-77), y niveles significativamente elevados fueron vistos en los días 1 al 8. El nivel máximo alcanzado fue de 310  $\mu$ g/ml (Figura 3B) (61).

Los niveles medios previos al desafío de Pig-MAP fueron de 0.54 mg/ml (rango: 0.42-0.67) y sus niveles máximos se dieron al día 2 post-infección; los niveles

máximos alcanzados fueron 6.65 mg/ml. Los niveles estuvieron significativamente elevados en los días 1 al 15 (Figura 3C) (61).

Como se pudo observar en estos dos estudios en base a la respuesta de las PFAs se comprobó que responden a los estímulos patológicos y los incrementos en sus concentraciones pueden llegar a ser de utilidad para monitorear distintas patologías de índole respiratoria.

### **3.5.1.2 Neumonía Enzoótica**

Otra enfermedad bacteriana de mucha importancia en los actuales sistemas de producción es la neumonía enzoótica cuyo agente patógeno es *Mycoplasma hyopneumoniae* (Mh), que se caracteriza por una neumonía seca, tos no productiva, y retrasos en el crecimiento. Las inspecciones en el rastro han indicado que del 30 al 80% de los cerdos con peso al mercado tienen lesiones pulmonares indicativas de neumonía por micoplasma. (71).

Por esta razón Franek *et al.*, (2004) evaluaron las concentraciones séricas de Hp, AGP y cortisol en cerdos en crecimiento en sistemas en confinamiento bajo una alta presión de infección de Mh y sistemas extensivos al aire libre. Utilizaron 40 lechones machos sanos, destetados a los 21 días de lactación. Se dividieron en 4 grupos de diez animales respectivamente, dos bajo sistema en confinamiento y dos en sistema extensivo (72).

La presencia de anticuerpos a Mh se realizó utilizando Tween 20 ELISA<sup>®</sup> de acuerdo a Bereiter *et al.*, (1990) y Nicolet *et al.*, (1980). Una prueba de inhibición

en suero fue usada para seropositividad a Mh y para propósitos de este trabajo, >50% fue considerado positivo. Los ensayos ELISA para Hp y AGP fueron realizados de acuerdo a ESAP (Exposure Serum Antibody Profiles, ESAP; Biovet Laboratories, St Hyacinthe, Quebec) y las concentraciones de cortisol fueron determinadas usando un kit comercial (Diagnostic Co, LA, CA, USA). El nivel mínimo detectable de cortisol fue de 2 ng por ml, con un coeficiente de variación dentro de la prueba de 4.2% (54).

En cuanto a los títulos de Mh, encontraron que al destete (21 días de edad) no hubo diferencia significativa y en los subsecuentes muestreos se observaron disminuciones e incrementos entre muestreos en ambos sistemas. El mayor número de resultados positivos de Mh fue observado a los 90 días de edad en los cerdos en sistema extensivo y a los 120 días de edad en el sistema en confinamiento (Cuadro 4) (72).

Cuadro 4. Resultados de la concentración de anticuerpos contra *Mycoplasma hyopneumoniae* en cerdos mantenidos dentro de las casetas con alta presión de infección y mantenidos al aire libre.

Edad de los cerdos	Aire libre % ± DS	Casetas % ± DS	Valor P
Edad al destete 21 días de edad	0.47 ±0.1	0.44 ±0.1	0.9
Cerdos de 60 días de edad	0.21 ±0.04	27.19 ±5.5	< 0.001
Cerdos de 90 días de edad	22.48 ±2.9	9.27 ±2.3	< 0.001
Cerdos de 120 días de edad	13.91 ±2.9	78.1 ±14.1	< 0.001
Cerdos de 150 días de edad	11.71 ±2.8	58.7 ±13.3	< 0.001

Fuente: Franek *et al.*, (2004)

La media de la concentración sérica de alfa-1 glicoproteína ácida (AGP) difiere entre el destete y a la edad de 60 días entre los cerdos de ambos sistemas. El valor más alto en concentración de AGP fue encontrado a la edad de 60 días  $1176 \pm 103.6 \mu\text{g/ml}$  (Cuadro 5) (72).

Cuadro 5. Valores séricos de Alfa-1 glicoproteína acida (AGP) en cerdos en crecimiento mantenidos dentro de las casetas con alta presión de infección y mantenidos al aire libre.

Edad de los cerdos	Aire libre $\mu\text{g/ml} \pm \text{DS}$	Casetas $\mu\text{g/ml} \pm \text{DS}$	Valor P
Edad al destete 21 días de edad	$769.4 \pm 102.1$	$814 \pm 111.3$	0.70
Cerdos de 60 días de edad	$1122 \pm 121.1$	$1176 \pm 103.6$	0.41
Cerdos de 90 días de edad	$867 \pm 112.1$	$627 \pm 100.3$	<0.001
Cerdos de 120 días de edad	$531 \pm 97.2$	$518 \pm 114.7$	0.08
Cerdos de 150 días de edad	$427 \pm 0.1$	$515 \pm 63.3$	0.02

Fuente: Franek *et al.* (2004)

La media de la concentración sérica de Haptoglobina (Hp) se incrementó en ambos sistemas entre el destete y los 150 días de edad. La máxima concentración de Hp fue observada a los 90 días de edad en los cerdos del sistema extensivo  $40.83 \pm 5.1$  (Cuadro 6) (72).

Cuadro 6. Valores séricos de haptoglobina (Hp) en cerdos en crecimiento mantenidos dentro de las casetas con alta presión de infección y mantenidos al aire libre.

Edad de los cerdos	Aire libre mg/ml $\pm$ DS	Casetas mg/ml $\pm$ DS	Valor P
Edad al destete 21 días de edad	1.89 $\pm$ 0.2	22.61 $\pm$ 3.1	<0.001
Cerdos de 60 días de edad	3.6 $\pm$ 0.4	21.27 $\pm$ 3.1	<0.001
Cerdos de 90 días de edad	40.83 $\pm$ 5.1	27.8 $\pm$ 3.8	0.04
Cerdos de 120 días de edad	28.97 $\pm$ 7.3	30.85 $\pm$ 5.0	0.75
Cerdos de 150 días de edad	34.87 $\pm$ 4.9	34.95 $\pm$ 7.3	0.98

Fuente: Franek *et al.*, (2004)

Las concentraciones séricas de cortisol disminuyeron entre el destete y la edad de 60 días en cerdos bajo el sistema extensivo, mientras que incrementó en los animales bajo el sistema en confinamiento (Cuadro 7) (72).

Cuadro 7. Valores séricos de Cortisol en cerdos en crecimiento mantenidos dentro de las casetas con alta presión de infección y mantenidos al aire libre.

Edad de los cerdos	Aire libre $\mu$ g/ml $\pm$ DS	Casetas $\mu$ g/ml $\pm$ DS	Valor P
Edad al destete 21 días de edad	1.8 $\pm$ 0.3	1.28 $\pm$ 0.1	0.04
Cerdos de 60 días de edad	0.9 $\pm$ 0.4	2.63 $\pm$ 3.3	<0.001
Cerdos de 90 días de edad	2.66 $\pm$ 0.4	2.88 $\pm$ 0.8	0.52
Cerdos de 120 días de edad	2.72 $\pm$ 7.3	1.75 $\pm$ 5.0	<0.001
Cerdos de 150 días de edad	1.93 $\pm$ 0.4	2.74 $\pm$ 0.3	<0.001

Fuente: Franek *et al.*, (2004)

Máximas concentraciones de cortisol fueron encontradas a la edad de 90 días en el sistema en confinamiento y a los 120 días en los animales en sistema extensivo (Cuadro 7) (72).

Cuadro 8. Correlación entre pesos corporales, concentraciones séricas de Hp, AGP, cortisol y los títulos serológicos contra *Mycoplasma hyopneumoniae* en cerdos en crecimiento mantenidos dentro de las casetas con alta presión de infección y mantenidos al aire libre.

Parámetros comparados	aire libre		casetas	
	Correlación	Valor P	Correlación	Valor P
Peso (kg), AGP ( $\mu\text{g/ml}$ )	-0.541	<0.0001	-0.476	<0.0008
Peso (kg), Hp (mg/dl)	0.705	<0.0001	0.28	0.602
Títulos Mh	0.782	<0.0001	0.848	<0.0001
Cortisol ( $\mu\text{g/dl}$ )	-0.014	0.9097	0.086	0.5654
AGP ( $\mu\text{g/ml}$ ), Hp (mg/dl)	-0.342	0.084	-0.224	0.1378
AGP ( $\mu\text{g/ml}$ ), títulos Mh	-0.362	0.0055	-0.324	0.0284
AGP ( $\mu\text{g/ml}$ ), cortisol ( $\mu\text{g/dl}$ )	0.269	0.433	0.105	0.4941
Hp (mg/dl), títulos Mh	0.804	<0.0001	0.044	0.7829
Hp (mg/dl), cortisol ( $\mu\text{g/dl}$ )	0.115	0.3871	0.322	0.291
cortisol ( $\mu\text{g/dl}$ ), títulos Mh	0.051	0.6878	0.111	0.4624

Fuente: Franek *et al.*, (2004)

En el cuadro 8 se presenta de manera comparativa los resultados de peso, los títulos de anticuerpos contra Mh y PFAs de cerdos en crecimiento mantenidos dentro de las casetas con alta presión de infección y mantenidos al aire libre (72).

No encontraron diferencias significativas en la ganancia diaria de peso y conversión alimenticia entre los animales bajo los sistemas extensivo e intensivo (72).

Puesto que en este estudio las concentraciones séricas de AGP en ambos sistemas evaluados alcanzaron su pico alrededor de los 60 días y decayeron a los 90 días y que las concentraciones séricas de AGP se incrementaron en respuesta a la infección por Mh, se puede concluir que los incrementos de la AGP están más asociados con infecciones agudas que a infecciones crónicas por Mh (72).

Que aunado a los incrementos graduales de Hp que indican la presencia de estrés crónico y que en combinación con la medición de los niveles de cortisol, la Hp puede ser un indicador de estrés en cerdos en crecimiento (72).

### **3.5.1.3 Infección mixta con *Mycoplasma hyopneumoniae* y *Actinobacillus pleuropneumoniae*.**

Amory *et al.*, (2007) realizaron un estudio para investigar la relación entre los signos patológicos de dos de las mayores enfermedades respiratorias bacterianas de los cerdos, neumonía enzoótica (EP) y pleuroneumonía (PL), y las concentraciones séricas de Hp. El estudio también estuvo dirigido para identificar los procedimientos de cría y manejo importantes que influyen en la respuesta de fase aguda, determinando los niveles de Hp en cerdos sacrificados provenientes de granjas comerciales (1). Se utilizaron cerdos en crecimiento con un peso entre los 20-45 Kg así como cerdos en finalización de los 45 kg hasta el peso al rastro (1).

Cada granja fue evaluada por su estado de neumonía calculando la prevalencia de pulmones afectados en rastro y su grado de consolidación para la EP; mientras que para la PL se determinó el grado de adhesión de la pleura y el grado de pleuresía (1).

Las concentraciones de Hp fueron determinadas de acuerdo al método de la actividad fijadora de la hemoglobina de Eckersall (2000) que permite mediciones de Hp para todas las especies (1).



Lo signos de EP fueron las lesiones de mayor prevalencia en este estudio con 147 cerdos que mostraron estos signos (variando de 0% a 26% del volumen total del pulmón afectado) de los 510 examinados (1).

Las lesiones patológicas asociadas con PL fueron encontradas en 34 de 510 cerdos examinados (signos de pleuresía variaron de 0% a 48% del volumen total del pulmón afectado en todos los cerdos) (1).

Los valores medios individuales (455 cerdos) para la Hp fueron de 0.64 mg/ml con un rango de entre 0 a 8.55 mg/ml, mientras que los valores medios de las concentraciones en granja (17 granjas) variaron de 0.27 a 1.26 mg/ml (Cuadro 9) (1).

Cuadro 9. Estadística descriptiva de las concentraciones séricas de haptoglobina (Hp) a nivel individual (cerdo) y por granja.

	Valores séricos individuales de Hp (mg/ml) n= 455 cerdos	Valores séricos medios de Hp por granja (mg/ml) n= 17 granjas
Media	0.64	0.64
Mínimo	0.00	0.27
Primer cuartil	0.04	0.43
Mediana	0.33	0.51
Tercer cuartil	0.96	0.82
Máximo	8.55	1.26

Fuente: Amory *et al.*, (2007)

Hubo un incremento significativo en la concentración de Hp en aquellos cerdos que mostraron lesiones de EP comparadas con aquellos sin lesiones de esta enfermedad (media positivos a EP: 0.43 mg/ml) mientras que en los negativos a

EP: 0.26 mg/ml. No hubo diferencia significativa en las concentraciones de Hp entre cerdos negativos o positivos con lesiones de PL. Cuando consideramos ambos tipos de neumonía juntas, los análisis muestran diferencias significativas para Hp (Figura 4) (1).

Las divisiones solidas en los corrales de finalización fueron asociadas con una disminución de Hp (0.44 mg/ml) comparada con la ausencia de divisiones solidas. El incremento en el tamaño del corral de finalización de 10 m<sup>2</sup> fue asociado con una disminución de Hp (0.08 mg/ml) en relación con la concentración media de Hp (1).

En este estudio, las concentraciones fueron significativamente altas (0.26-0.43 mg/ml,  $p < 0.01$ ) en cerdos que mostraron signos patológicos de EP comparados con aquellos que no. También se encontró una relación entre las lesiones de una infección de *M. hyopneumoniae* y las concentraciones séricas de Hp. Estos datos son semejantes a los reportados por Franek *et al.*, (2004), quienes encontraron que las concentraciones de Hp se correlacionaban con los títulos de anticuerpos a *M. hyopneumoniae* en cerdos criados en sistemas extensivos (1).

En conclusión, este estudio demostró que la presencia de signos patológicos de EP y componentes del medioambiente en la granja se pudieron asociar con la variación de niveles en las concentraciones séricas de Hp medidas en el rastro (1).

### 3.5.1.4 Síndrome reproductivo y respiratorio porcino (PRRS)

Asai *et al.*, (1999) Determinaron la concentración de dos proteínas de fase aguda, AGP y Hp, y las de IL-6 y TNF- $\alpha$ , en suero de cerdos de cuatro semanas de edad infectados experimentalmente con el virus del síndrome reproductivo y respiratorio porcino (PRRS) y en cerdos al destete a los 21 días de edad, de una granja con infección crónica del virus del PRRS (13).

Las concentraciones de AGP y Hp fueron evaluadas por un ensayo de inmunodifusión radial, usando un kit comercial (13).

Los resultados se presentan en la Figura 5. Las concentraciones de Hp se incrementaron a los 7 días post-infección (PI) y los niveles más altos fueron observados en el día 7 PI. Incrementos en los niveles séricos de Hp fueron observados hasta el día 21 PI. En contraste, las concentraciones séricas de AGP en cerdos infectados con el virus del PRRS no cambiaron significativamente, la media de las concentraciones de AGP estuvo en el rango de 500 a 1000  $\mu\text{g/ml}$  (13).

Las concentraciones séricas de IL-6 infectados con el virus del PRRS se incrementaron significativamente a los 7 días ( $362.3 \pm 116.1 \text{ pg/ml}$ ), 14 días ( $441.6 \pm 127.0 \text{ pg/ml}$ ) y 21 días PI ( $269.2 \pm 131.7 \text{ pg/ml}$ ); TNF- $\alpha$  no fue detectada ni en los cerdos infectados ni en los controles a lo largo del experimento (13).

En la piara de cerdos infectados con el virus del PRRS, en el área de destete (Figura 6), fueron detectados anticuerpos maternos hacia el virus del PRRS en cuatro cerdos (20%) en la semana 1 y no fueron detectados en la semana 3

después del destete. Los anticuerpos hacia el virus del PRRS fueron detectados en 11 (55%) y 17 (85%) de los 20 cerdos en las semanas 5 y 7 después del destete, respectivamente. En el periodo de 1 a 3 semanas después del destete, los niveles séricos de Hp fueron aproximadamente 2000 µg/ml. En contraste, las concentraciones séricas de Hp se incrementaron significativamente alrededor de 3 veces más en las semanas 5 y 7 después del destete con una diferencia significativa (13).

Este reporte muestra un incremento en el nivel sérico de Hp, pero no AGP, en cerdos experimentalmente infectados con el virus del PRRS; la Hp se incremento durante el periodo de infección temprana. La viremia en cerdos infectados con el virus del PRRS persiste más tiempo que la duración del incremento de Hp. Sin embargo, la duración del incremento de Hp no estuvo correlacionada con el periodo de viremia (13).

Por lo antes dicho concluyeron que la producción de Hp se ve influenciada por factores infecciosos y no infecciosos (13).

### **3.5.1.5 Complejo respiratorio porcino**

El complejo respiratorio porcino es la manifestación clínica de una enfermedad en la que múltiples agentes trabajan en conjunto y asociados a condiciones deficientes en el ambiente y estrategias de manejo. El complejo respiratorio porcino es más común debido a la interacción y sinergismo tanto de agentes patógenos virales y bacterianos (10).

Por ello Pallarés *et al.*, (2006) se plantearon como objetivo estudiar la posible relación entre la severidad de las lesiones pulmonares macroscópicas y microscópicas con los niveles de PFAs (10).

Treinta y nueve cerdos entre 16 y 25 semanas, provenientes de granjas comerciales y con diagnóstico positivo a síndrome respiratorio porcino fueron incluidos en este estudio. Las lesiones macroscópicas se evaluaron de acuerdo al porcentaje de la superficie afectada del pulmón por neumonía (0 a 100%). Se tomaron muestras de pulmón y otros órganos para el diagnóstico histopatológico y se les asignó una escala para evaluar la severidad de la neumonía intersticial que va de 0 (normal) a 3 (neumonía intersticial severa). La ausencia o presencia de neumonía bacteriana fue calificada con 0 ó 1 para propósitos estadísticos (10).

La presencia del virus del PRRS y del circovirus porcino tipo 2 (PCV2) fue demostrada en muestras de pulmón y linfonodos traquebronquiales mediante PCR. El aislamiento de agentes bacterianos fue realizado por procedimientos bacteriológicos rutinarios (10).

Los niveles promedios de Hp, CRP, y SAA de siete cerdos SPF de entre 16 y 18 semanas de edad fueron usados como control (10).

La concentración media de las PFAs para todos los cerdos fue de 5 mg/ml para la Hp, 163.7 µg/ml para CRP y 139.8 µg/ml para SAA (10).

Por PCR, se comprobó la presencia de PRRS en 21/39 cerdos y PCV2 en 27/39 cerdos. Por cultivo bacteriano, *Pasteurella multocida* fue aislada en 24/39 cerdos, *Streptococcus suis* in 24/39 cerdos, *Bordetella bronchiseptica* en 13/39 cerdos, y *Haemophilus parasuis* en 2/39 cerdos (10).

No hubo diferencias significativas entre el porcentaje de superficie pulmonar afectada y los niveles de PFAs pero hubo una tendencia significativa ( $p= 0.077$ ) para las concentraciones de Hp. Para las lesiones microscópicas en pulmón hubo diferencias significativas ( $p<0.05$ ) para los niveles de Hp por la presencia de neumonía bacteriana. No se encontraron diferencias significativas para los niveles de CRP y SAA para la neumonía bacteriana pero hubo una tendencia a la significancia para la concentración de CRP (10).

En este estudio los niveles medios de PFAs fueron más altos que aquellos encontrados en otras investigaciones en cerdos SPF. El nivel de Hp fue cinco veces más alto, el nivel de CRP fue cuarenta y dos veces más alto, y el nivel de SAA fue 35 veces más alto que los niveles en cerdos SPF (10).

La severidad de la neumonía intersticial causada por virus no tuvo relación estadística con los niveles de PFAs pero se encontró una relación estadística entre la presencia de neumonía bacteriana y la concentración de Hp. La influencia

de infecciones bacterianas sobre los niveles de PFAs también ha sido reportada en humanos (10).

Y concluyeron que los niveles de Hp podrían ser usados como indicador para la presencia de infecciones bacterianas en cerdos (10).

El objetivo del estudio realizado por Pappaterra *et al.*, (2006) fue el determinar la contribución de la Pig-MAP en el diagnóstico del complejo respiratorio porcino (73).

Para este fin utilizó cerdos de ocho y nueve semanas de edad y fueron alojados en instalaciones de fase 3. Se muestrearon 10 cerdos por semana de edad, con un intervalo de un mes entre cada uno con tres puntos de muestreo (73).

Se realizó serología para PRRS, *M. hyopneumoniae*, *A. pleuropneumoniae*, Influenza, y Pig-MAP (PigCHAMP Pro-Europa, Segovia, España) (73).

Para el primer muestreo hubo variabilidad de los anticuerpos contra *M. hyopneumoniae* entre varias edades. La Seroconversión para PRRS fue del 40% a las 13 semanas de edad. Los niveles de Pig-MAP fueron  $\geq 1$  mg/ml en la semana 10 con una tendencia a incrementar desde la semana 13 (73).

Para el segundo muestreo la variabilidad de anticuerpos hacia *M. hyopneumoniae* se observó otra vez. La seroconversión hacia PRRS en cerdos de 12 semanas de edad fue del 40% y se incremento de la 14-15 semana a 80%. Los niveles de Pig-MAP permanecieron cerca de 1 mg/ml en la semana 10 y fueron observados más altos desde la semana 13 (73).

En el tercer muestreo una reducción en el número de cerdos positivos a *M. hyopneumonia* fue observada desde la semana 15. Los niveles de Pig-MAP permanecieron muy cerca a 1 mg/ml, observando que en la semana 12 fueron más altos y estos niveles fueron altos desde la última semana evaluada (73).

Con un incremento y sostenimiento de los niveles de Pig-MAP  $\geq 1$  mg/ml fueron observados cerdos desde las ocho semanas de edad, coincidiendo con la infección de PRRS y otros agentes bacterianos que fueron aislados (73).

Los datos de este estudio indicaron que la Pig-MAP es útil para determinar el momento de infección, el estado de infección en el cual los signos clínicos pueden ser observados, y contribuir al diagnóstico del complejo respiratorio porcino (73).

### **3.5.1.6 Síndrome del desgaste multisistémico post-destete (PMWS)**

El Síndrome del desgaste multisistémico post-destete (PMWS) es una enfermedad recientemente descrita causada por el circovirus porcino tipo 2 (PCV2), la cual afecta a cerdos al final del destete y en el período de engorda. Los hallazgos clínicos más frecuentes en PMWS son retardo del crecimiento, problemas respiratorios y mortalidad. La lesión microscópica más relevante fue la depleción linfoide e inflamación granulomatosa en tejidos linfoides; además, los cerdos afectados pueden potencialmente tener inflamación granulomatosa en casi todos los tejidos. Por consiguiente, el curso de PMWS tiene un marcado componente inflamatorio y sugiere la alteración de los perfiles de las PFAs en cerdos infectados. Esta hipótesis ha sido confirmada preliminarmente en un estudio



donde un incremento en los niveles séricos de Hp en piaras crónicamente afectadas por PMWS fue observado (68).

El objetivo de Segales *et al.*, (2004) fue el comparar los niveles de Hp y Pig-MAP, entre cerdos afectados por PMWS y cerdos con infecciones sub-clínicas de PCV2, y evaluar la utilidad de las concentraciones PFAs como un objetivo indicador para la evaluación del nivel de salud individual y de la piara (68).

En el primer estudio, un grupo de 15 cerdos de 8 semanas de edad provenientes de una granja afectada por PCV2 fueron sangrados y posteriormente eutanasiados por sobre dosis de pentobarbital, se les realizó una necropsia completa, para la realización de histopatología e hibridación in situ para detectar PCV2. Basados en los resultados. Los cerdos fueron clasificados como, que sufrían de PMWS (n=10) o animales sanos (n=5) (68).

En un segundo estudio, un grupo de 45 cerdos provenientes de otra granja afectada por PMWS fueron seleccionados y sangrados a los 3, 7, 12 y 28 semanas de edad. La población de estudio fueron cerdos que no mostraron signos clínicos compatibles con PMWS durante el periodo del estudio, los cuales no fueron sacrificados porque fueron seleccionados como parte de un futuro grupo de cría. La evaluación del estado de infección por PCV2 en estos cerdos fue hecho retrospectivamente por PCR para PCV2 en muestras de suero (68).

Las PFAs seleccionadas fueron medidas en suero por inmunodifusión radial (68).

Los resultados que obtuvieron fueron los siguientes: En el primer estudio la media en los niveles de Hp y Pig-MAP se incrementaron significativamente ( $p=0.004$  y  $p=$

0.0006 respectivamente) en los cerdos afectados por PMWS cuando se compararon con los niveles encontrados en los animales sanos ( $2.52 \pm 0.88$  mg/mL vs.  $1.06 \pm 0.73$  mg/mL para Hp y  $3.81 \pm 1.53$  mg/ml vs.  $0.76 \pm 0.34$  mg/mL para Pig-MAP) (Cuadro 10) (68).

Cuadro 10. Concentraciones (mg/mL) de haptoglobina (Hp) y la proteína mayor de fase aguda (Pig-MAP) en 10 cerdos con diagnóstico de PMWS y 5 cerdos sanos.

No. de cerdo	Estado de Salud	Pig-MAP	Hp
1	PMWS	3.65	3.56
2	PMWS	2.53	2.03
3	PMWS	2.66	2.04
4	PMWS	3.65	2.69
5	PMWS	3.35	2.04
6	PMWS	6.71	3.26
7	PMWS	4.83	1.5
8	PMWS	5.43	4.18
9	PMWS	3.95	2.17
10	PMWS	1.39	1.7
11	Sano	0.63	0.82
12	Sano	0.91	2.04
13	Sano	0.54	0.11
14	Sano	0.46	0.48
15	Sano	0.63	1.21

Fuente: Segales *et al.*, (2004)

En el segundo estudio, no se observaron diferencias significativas en la media de los valores Hp y Pig-MAP entre los cerdos PCV2 PCR positivos y cerdos negativos de cualquier edad. Sin embargo, ambas PFAs incrementaron sus niveles significativamente con la edad en cerdos PCVS PCR negativos (Cuadro 11) (68).

Cuadro 11. Valores medios (mg/mL) de haptoglobina (Hp) y proteína mayor de fase aguda (Pig-MAP)  $\pm$  una desviación estándar de 45 cerdos de una granja la cual sufrió un brote agudo de PMWS. Para cada grupo de edad, el número de cerdos (n) y el resultado de la prueba de PCR (positivo/negativo) son enlistados.

Edad de los cerdos	Pig-MAP		Hp	
	PCV2 PCR positivos	PCV2 PCR negativos	PCV2 PCR positivos	PCV2 PCR negativos
3 semanas	-	0.86 $\pm$ 0.44 (n=45)	-	0.78 $\pm$ 0.73 (n=45)
7 semanas	1.29 $\pm$ 0.79 (n=8)	0.84 $\pm$ 0.52 (n=37)	1.14 $\pm$ 1.03 (n=8)	1.10 $\pm$ 0.95 (n=37)
12 semanas	1.50 $\pm$ 1.32 (n=30)	1.04 $\pm$ 0.48 (n=15)	1.99 $\pm$ 0.76 (n=30)	1.90 $\pm$ 0.46 (n=15)
28 semanas	1.85 $\pm$ 1.51 (n=6)	1.59 $\pm$ 1.42 (n=39)	2.18 $\pm$ 0.85 (n=6)	1.59 $\pm$ 0.73 (n=39)

Fuente: Segales *et al.*, (2004)

Los datos obtenidos de este estudio indican que las PFAs, como por ejemplo Hp y Pig-MAP fueron significativamente más altas en cerdos con diagnóstico de PMWS cuando se comparan con los niveles de los cerdos sanos. Sin embargo, los cerdos infectados sub-clínicamente por PCV2 no mostraron diferencias en las concentraciones de Hp y Pig-MAP cuando fueron comparados por edades con los cerdos no infectados por PCV2 (68).

Estos resultados sugieren que el incremento de los niveles de PFAs depende del desarrollo de PMWS y no solo de la infección de PCV2. Varios estudios son necesarios para evaluar las diferencias entre granjas afectadas y no afectadas y diferentes edades en los cerdos para establecer la utilidad de la determinación de las PFAs en consideración con el estado de salud y la eficacia de las medidas de control para PMWS (68).

Sanders *et al.*, (2003) llevaron a cabo un estudio en ocho granjas de ciclo completo. Las granjas fueron clasificadas en “crónicamente afectadas” por PMWS (3 granjas) o “Libres-PMWS” (5 granjas) (74).

En cada una de las granjas, cerdos de los siguientes grupos de edad fueron muestreados: post-destete (7 a 9 semanas de edad), engorda temprana (12 a 14 semanas) y finalización (19 a 24 semanas). Diez cerdos de cada grupo de edad fueron muestreados; y las muestras fueron procesadas con una prueba bioquímica no específica de especie (Tridelta Development Ltd.) (74).

De un total de 242 sueros analizados, la concentración media de Hp fue de 1.37 mg/ml (mínimo 0, máximo 3.86) (74).

La media para Hp a nivel granja fue 1.2 (0.8 a 2.3) mg/ml en las granjas “libres-PMWS” y 1.6 (1.4 a 1.9) mg/ml en las granjas “crónicamente afectadas” por PMWS (Cuadro 12) (74).

Cuadro 12. Resultados para los tres grupos de edad

	Estado respecto a PMWS	Haptoglobina	
		Media (mg/ml)	DS media de grupos de edad
1	crónicamente afectadas	1.9	1
2	crónicamente afectadas	1.4	1
3	crónicamente afectadas	1.5	0.8
4	Libres	0.9	0.8
5	Libres	1.3	0.6
6	Libres	0.9	0.4
7	Libres	0.8	0.5
8	Libres	2.3	0.6

Fuente: Sanders *et al.*, (2003)

La variabilidad de los resultados expresados por la desviación estándar media de cada grupo de edad, fue mayor para las granjas afectadas (0.8 a 1) que para las granjas “libres-PMWS” (0.4 a 0.8) (74).

La concentración media de Hp y la desviación estándar para el grupo de edad post-destete se muestra en el Cuadro 13.

Cuadro 13. Resultados para el grupo de edad post-destete

	Estado respecto a PMWS	Haptoglobina	
		Media (mg/ml)	DS media de grupos de edad
1	crónicamente afectadas	1.6	1.2
2	crónicamente afectadas	2	1
3	crónicamente afectadas	2.3	0.8
4	Libres	1.1	0.9
5	Libres	0.1	0.1
6	Libres	1.6	0.7
7	Libres	0.6	0.6
8	Libres	2.1	0.6

Fuente: Sanders *et al.*, (2003)

En este grupo de edad, la media de Hp fue 1.1 mg/ml en las granjas “libres-PMWS” y 2 mg/ml en las “crónicamente afectadas”. Las desviaciones estándar

fueron también mayores en las granjas “crónicamente afectadas (0.8 a 1.2) que para las granjas “libres –PMWS” (0.1 a 0.9) (74).

En este estudio las granjas crónicamente afectadas por PMWS estuvieron caracterizadas por concentraciones medias altas de Hp y una alta variabilidad de resultados dentro de los grupos de edad. La combinación de concentraciones medias de Hp y una baja variabilidad podría ser asociada a un episodio clínico de enfermedad aguda. Esto confirma que los resultados de los análisis de Hp deberían tomarse en cuenta, tanto la concentración media como la variabilidad, usando la desviación estándar (74).

Los niveles de haptoglobina en granjas afectadas por PMWS muestran la importancia del proceso inflamatorio en esta enfermedad (74).

Por lo antes mencionado podemos inferir que la Hp podría ser usada como un indicador objetivo para la evaluación del estado de salud de la pira y de la eficacia de las medidas de control para PMWS (74).

## 3.5.2 Enfermedades digestivas

### 3.5.2.1 Salmonelosis entérica porcina

En un estudio realizado por Balaji *et al.*, (2000) evaluaron la respuesta del estrés sistémico endocrino (cortisol) y el crecimiento mediante la medición del factor de crecimiento insulínico tipo 1 (IGF-1), así como algunos mediadores de la inflamación [prostaglandina E<sub>2</sub> (PGE<sub>2</sub>) y el factor de necrosis tumoral  $\alpha$  (TNF $\alpha$ )], en una infección activa con *Salmonella typhimurium* (*S. TYP*). Dieciocho machos castrados fueron alojados individualmente con libre acceso al agua y alimento. Los cerdos usados como control recibieron por vía oral caldo de cultivo estéril (n= 7), mientras que los cerdos tratados (*S. TYP*, n= 11) recibieron por vía oral  $3 \times 10^9$  UFC de *S. TYP*. Las muestras sanguíneas fueron colectadas en intervalos de 6 horas de las -48 a las 120 horas. Peso corporal, consumo de alimento, y temperaturas rectales también fueron monitoreadas (75).

Las temperaturas rectales estuvieron elevadas en los cerdos inoculados con *S. TYP* (P<.01) comparados con los cerdos control por 12 horas, alcanzando su pico a las 42 horas (P<.001), y permaneciendo elevadas por el resto del estudio (14 días) (Figura 7) (75).

El consumo alimenticio se redujo en los cerdos inoculados con *S. TYP* a las 48 horas (P<.001) y permaneció reducido hasta 120 horas después del desafío. La ganancia diaria de peso también se redujo durante dos semanas seguidas de la infección (P<.001) (Figura 8, 9) (75).

Las concentraciones plasmáticas de cortisol se incrementaron ( $P < .05$ ) a las 18 horas después del desafío en los cerdos inoculados con *S. TYP* y permanecieron elevadas hasta las 60 horas después de la infección (Figura 10) (75).

Una marcada supresión de los niveles plasmáticos de IGF-1 ocurrió en los cerdos inoculados empezando a la 30 horas después de la infección ( $P < .001$ ), y permanecieron bajos hasta las 108 horas (Figura 11). Los niveles plasmáticos de TNF- $\alpha$  y PGE<sub>2</sub> no se vieron afectados consistentemente por el tratamiento (75).

Tomando en cuenta los resultados, revelan que el proceso infeccioso produjo profundas alteraciones en el estrés endocrino y el eje somatotrópico, y esto puede ocurrir en la ausencia de cambios significativos en los mediadores sistémicos de la inflamación (IL-1, IL-6, TNF- $\alpha$ ), que a su vez se reflejarían en las concentraciones de las PFAs (75).

En otro estudio realizado por Burkey *et al.*, (2004) evaluaron el crecimiento, la respuesta de fase aguda (RFA), y los patrones de eliminación bacteriana en heces de cerdos ( $n= 96$ ; peso inicial  $6.8 \pm 1.3$  kg) alimentados con mananoligosacáridos (MANNAN) y clorato de sodio (CHLORATE) antes y después de un desafío con *Salmonella entérica* serotipo *thyphimurium* (*S. TYP*). La dieta control negativa no contenía antimicrobiano (CON), y la dieta control positiva contenía carbadox (CARB; 55 ppm). Las dietas que evaluaron contenían (como base) MANNAN (1,500 ppm) o CHLORATE (800 ppm). Los cerdos comieron las dietas por 14 días y después se les dio una dosis oral de *S. TYP* (76).



Los cerdos que comieron CARB tuvieron mayores ganancias diarias de peso durante todo el estudio comparado con los cerdos de otros tratamientos ( $p < 0.05$ ). Durante la semana 1 y 2, antes del desafío con *S. TYP*, el consumo de alimento fue más bajo para los cerdos que comieron MANNAN y CHLORATE que los que comieron CARB ( $P < 0.05$ ). Durante las dos semanas finales, los cerdos que comieron CARB tuvieron mayores consumos de alimento que los cerdos de los otros tratamientos ( $P < 0.05$ ). La conversión alimenticia fue mayor para los cerdos alimentados con CARB en las dos semanas anteriores al desafío con *S. TYP* ( $P < 0.05$ ); sin embargo, de la semana 3 a 4 después del desafío con *S. TYP*, la conversión alimenticia fue reducida por los cerdos CON comparados con los cerdos de otros tratamientos ( $P < 0.05$ ) (76).

Las concentraciones séricas de Hp fueron mayores ( $P < 0.001$ ) para todos los tratamientos a los 6 días después del desafío con *S. TYP* comparados con las del día 13 después del desafío con *S. TYP*. En general, la Hp fue mayor para el grupo MANNAN que para los grupos de CARB y CHLORATE ( $P < 0.05$ ) y tendieron a incrementarse ( $P < 0.06$ ) en relación con los CON (Figura 12) (76).

La IL-6 no se vio afectada ni por tratamiento o día post desafío con *S. TYP*. La eliminación fecal de *S. TYP* fue menor para el CHLORATE ( $P < 0.05$ ) que para todos los otros tratamientos al día 7 después del desafío con *S. TYP* (76).

Burkey *et al.*, (2004) concluyeron que debido a que los niveles más bajos de Hp junto con las mejores ganancias de peso y conversiones alimenticias se encontraron en los animales alimentados con la dieta a base de antibiótico,

podemos determinar que la adición de una sustancia antibiótica inhibe la proliferación bacteriana y por ende las concentraciones de las PFAs (76).

### **3.5.2.2 Colibacilosis porcina**

Carroll *et al.*, (2004) tuvieron como propósito monitorear la respuesta de fase aguda en cerdos experimentalmente infectados con *Escherichia coli* K88 (*E. coli*) seguido de un tratamiento con antibióticos y compararon los resultados con aquellos encontrados en otros estudios (14).

Veinticuatro cerdos machos (Duroc x Landrace) de 24 días de edad fueron utilizados; todos los cerdos recibieron una dosis oral de *E. coli* K88 ( $2.4 \times 10^8$  UFC). Cinco horas después, los cerdos fueron divididos en cuatro grupos (n= 6 cerdos/grupo) los de un grupo recibieron una inyección intramuscular de antibiótico (25 mg de Cerftiofur) y el grupo restante una inyección intramuscular de 0.5 ml de solución salina (14).

Las concentraciones séricas de CRP y de Hp fueron determinadas usando kits comerciales disponibles (Phase Range™ Porcine C-reactive protein assay and Phase Range™ Haptoglobin assay, Tri-Delta Diagnostic Products, Morris plains, NJ, USA) (14).

Los niveles de cortisol fueron mayores en el tratamiento antibiótico comparados con el tratamiento de solución salina; y se observó una relación tiempo-tratamiento (P <0.05) (Figura 13) (14).

Para las concentraciones séricas de Hp, se observó un efecto tiempo ( $P < 0.011$ ) dado que la Hp se incrementó en ambos tratamientos después de la ingestión de *E. coli* (Figura 14). Inicialmente, durante el PRE período, hubo un decremento, seguido por un ligero incremento en las concentraciones séricas de Hp (efecto tiempo;  $P < 0.02$ ) para ambos grupos de tratamiento. Pero, no hubo diferencia observada ( $P > 0.72$ ) en las concentraciones séricas de Hp entre los dos grupos de tratamiento. Durante el POST periodo, hubo también un efecto tiempo ( $P < 0.0001$ ) dado que las concentraciones de Hp se incrementaron dramáticamente en ambos tratamientos por 24 horas post-ingestión *E. coli*. (14).

Las concentraciones séricas de Hp no se incrementaron hasta 8 horas post ingestión de *E. coli* alcanzando su pico en concentración a las 24 horas (Figura 14).

Debido a la variación inicial de las concentraciones séricas de CRP, los resultados están presentados como la actual respuesta de tiempo 0, la cual fue calculada restando los valores de tiempo 0 a los valores de cada uno de los tiempos para todos los cerdos. Hubo una interacción tiempo-tratamiento ( $P < 0.0001$ ) observando niveles más altos de CRP para el grupo del tratamiento antibiótico comparados con los del grupo de solución salina. Las concentraciones de CRP se incrementaron dramáticamente durante la primer hora post-tratamiento en ambos grupos, que resultó en una respuesta 2.45 veces más en el tratamiento-antibiótico comparados con los del tratamiento con solución salina a las 6 horas post-ingestión *E. coli*. Adicionalmente, mientras la CRP parecía estabilizarse en los cerdos del tratamiento con solución salina, las concentraciones de CRP

continuaron incrementándose en los cerdos del tratamiento antibiótico hasta el final del experimento. Por esta razón, durante el período POST, hubo un efecto debido al tratamiento ( $P < 0.009$ ) dado que los cerdos del tratamiento antibiótico tuvieron los niveles más altos de CRP comparados con los del tratamiento con solución salina (14).

Las concentraciones séricas de CRP se incrementaron seguido de la inoculación oral de *E. coli* y permanecieron elevadas durante 24 horas del experimento. En el grupo del tratamiento antibiótico, las concentraciones de CRP fueron más altas que los del grupo del tratamiento con solución salina (Figura 15). Esto puede sugerir que la CRP es más sensible a la enterotoxemia aguda. No es conocido si los incrementos de CRP en el grupo antibiótico son por una relación directa con los incrementos en la concentración del LPS o debido a la respuesta inflamatoria asociada con esta liberación (14).

De esta manera, Carroll *et al.*, (2004) sugieren que la Hp es un pobre indicador de la respuesta de fase aguda antes de las 24 horas post-infección por *E. coli* (14).

### 3.5.3 Otras enfermedades

#### 3.5.3.1 Estreptococosis porcina

Las PFAs se han probado en distintos procesos patológicos, entre los que destacan los respiratorios y digestivos, por ser los más comunes, por así decirlo; pero el potencial de las PFAs también se ha evaluado en otros procesos patológicos y distintos conjuntos de factores, que veremos más adelante.

*Streptococcus suis* (*S. suis*) es un agente bacteriano que causa septicemia y meningitis en cerdos jóvenes. Existen 35 serotipos capsulares, pero está bien reconocido que el serotipo 2 es el más importante. *S. suis* puede estar presente de manera endémica en la piara sin ningún indicador o signo clínico de enfermedad. Por lo tanto, la prevalencia de la infección puede ser completamente diferente a la prevalencia de la enfermedad (77).

Por ello y debido a su importancia e impacto en la salud de la piara; la respuesta de las PFAs a la infección experimental por *S. suis* fue evaluada mediante la medición de las PFAs positivas, CRP, SAA, Hp, y Pig-MAP y de las PFAs negativas, albúmina y ApoAI. El objetivo fue el elucidar las diferencias en el comportamiento individual de las PFAs durante una típica infección bacteriana septicémica (38).

Ocho cerdos (Yorkshire x Landrace) fueron inoculados subcutáneamente con una cepa viva de *S. suis* serotipo 2 ( $10^{10}$  UFC) y las muestras sanguíneas fueron tomadas antes (día -8 al 0) y en varios días post inoculación (p.i.) (1, 2, 5, 8, 12),

hasta que los cerdos fueron sacrificados de acuerdo a los lineamientos del Danish Animal Experiments Inspectorate para realizarles la necropsia en el día 14 p.i. (38).

Las concentraciones de Pig-Map, ApoA-I y albúmina fueron determinadas por inmunodifusión radial en gel de agarosa al 1% que contenía un antisuero específico policlonal de conejo. Las concentraciones de CRP, Hp, y SAA fueron medidas por pruebas de ELISA (38).

Signos clínicos (fiebre y cojeras) fueron observados en cuatro de los cinco cerdos inoculados al día 2 p.i., estos cerdos también tuvieron lesiones artríticas a la necropsia; mientras que un cerdo no mostró signos clínicos visibles de infección por *S. suis* en ningún punto del experimento (Cuadro 14) (38).

Cuadro 14. Resumen de los cultivos sanguíneos, observaciones clínicas y hallazgos patológicos de los cerdos inoculados s.c con  $10^{10}$  UFC de *S. suis* serotipo 2 cepa SS02-0119 en el día 0.

No. de Cerdo	Recuperación de <i>S. suis</i> serotipo 2 por cultivo sanguíneo.		Cojera (día p.i.)	Artritis por exanimación macroscópica a la necropsia (día 14 p.i.)	Artritis <sup>a</sup> por histopatología a la necropsia (día 14 p.i.)
	Día 1 p.i.	Día 8 p.i.			
1	+	+	2-4	Ninguno	+
2	+	+	2-7	+	+
3	+	+	2	Ninguno	+
4	+	+	2-6	+	+
5	+	+	Ninguno	Ninguno	Ninguno

<sup>a</sup> Lesiones incluidas: crónica proliferativa (cerdos No. 1-3), sub-aguda supurativa (cerdo No. 4) y fibrosa supurativa (cerdo No. 2)

Fuente: Sorensen *et al.*, (2006)

La CRP y el SAA mostraron incrementos rápidos en sus concentraciones séricas; CRP se elevó de los días 1 al 12 p.i. y alcanzo su pico al día 1 p.i. con niveles 10 veces más que su nivel al día 0. SAA se elevó rápidamente entre 30 a 40 veces más que su nivel al día 0, alcanzando su pico en los días 1-2 y regresando a su

nivel previo a la inoculación al día 5 p.i. Hp y Pig-MAP mostraron ligeras y lentas respuestas, ambas alcanzaron su pico alrededor de los 5 días p.i. Hp estuvo incrementada a lo largo de todo el experimento con niveles máximos de 10 veces su nivel al día 0, y Pig-Map estuvo elevada durante los días 1-12 p.i. con un nivel pico de alrededor siete veces su nivel del día 0. ApoA-I estuvo decreciendo de los días 1 al 8 y mostró niveles mínimos de alrededor del 40% menos que su nivel al día 0 alrededor de los días 1-2 p.i. No hubo un patrón claro de cambio en los niveles de albúmina que pudiera ser identificado (Figura 16) (38).

Solo un cerdo mostró signos clínicos en el día 2, y también mostró una respuesta en las PFAs, aunque de una relativa corta duración; mientras que tres de los cerdos presentaron signos clínicos por varios días y tuvieron una respuesta de fase aguda más prolongada (38).

El cerdo que no mostró signos clínicos ni lesiones artríticas, mostró una respuesta de PFAs comparable con la de aquellos cerdos afectados clínicamente. Entonces, tanto las infecciones por *S. suis* agudas como sub-clínicas serían demostradas por la medición de una o más de las PFAs. La medición combinada de dos o tres de las PFAs, incluyendo aquellas proteínas con cinéticas lentas y rápidas, deberían ser usadas para lograr la más alta sensibilidad para la detección de las infecciones por *S. suis* durante un periodo de tiempo prolongado (38).

### 3.5.4 Prácticas de manejo

En la producción porcina, se ha incrementado la atención principalmente en las prácticas de manejo con el objetivo de prevenir enfermedades y optimizar el potencial de crecimiento para mantener altos los estándares de cría (78).

Eurell *et al.*, (1992) realizaron un estudio con la finalidad de comparar las concentraciones de Hp y la ganancia de peso como un indicador del nivel de salud y desempeño en pjaras comerciales. Para este fin seleccionaron 10 cerdas gestantes de las cuales se tomaron aleatoriamente cuatro lechones de cada una al destete, aproximadamente a las tres semanas de edad. Tomaron muestras sanguíneas y registraron los pesos individuales a partir de la semana tres de edad y lo continuaron por un período de 10 semanas (79).

Las concentraciones séricas de Hp las determinaron usando un ensayo espectrofotométrico basado en la capacidad de fijación del complejo metahemoglobina-cianuro (79).

Durante las primeras dos semanas todos los grupos tuvieron bajas ganancias de peso que coincide con las elevadas concentraciones séricas de Hp (79).

Los picos en la concentración de Hp para el grupo 1 y 2 fueron a las seis semanas de edad y declinaron por el resto del estudio manteniéndose por debajo de 25 y 35 mg CBC/dL respectivamente (Figuras 17 y 18); para el grupo tres el pico fue alcanzado a las ocho semanas de edad (Figura 19), sin embargo los niveles de Hp se mantuvieron por arriba de los 40 mg CBC/dL a lo largo del estudio (79).



La correlación entre las concentraciones de Hp y la ganancia de peso fue evaluada usando un modelo de regresión cuadrático lineal. El análisis de regresión mostró que las concentraciones séricas de Hp y los pesos estuvieron altamente correlacionados, con un valor  $R^2$  de 0.894 para el grupo 1, 0.776 para el grupo 2 y 0.828 para el grupo 3 (79).

Este fue el primer reporte de un estudio usando las concentraciones séricas de Hp para evaluar la respuesta de fase aguda en piaras comerciales. El análisis estadístico de los datos indicó que los niveles de Hp estuvieron altamente correlacionados con la ganancia de peso. Para la cuarta semana del estudio, cuando los cerdos tenían 7 semanas de edad, las concentraciones de Hp podrían ser usadas para diferenciar cerdos que tuvieran elevadas ganancias de peso de los que tuvieran bajas ganancias de peso. Esto sugiere que los valores tienen el potencial de ser un indicador temprano de las ganancias de peso en el ciclo de producción (79).

Durante la cuarta semana del estudio a la sexta semana de edad, hubo un pico en las concentraciones de Hp para los grupos uno y dos (Figura 17 y 18). Para el grupo tres los valores de Hp estuvieron por arriba de los rangos de los grupos uno y dos (Figura 19). Esto pudo haber sido un evento aleatorio que no habría ocurrido si más cerdos hubiesen sido incluidos en el estudio. Sin embargo, también es posible que los factores estresantes asociados con el destete hayan causado una respuesta de fase aguda en los animales. Si la medición de las concentraciones de Hp pudiera proveer un método puntual para detectar el estrés por destete entonces este ensayo podría ser usado en la evaluación de los efectos de las

estrategias de intervención como los procedimientos de destete temprano medicado (79).

Las decisiones sobre el nivel de salud no deben ser tomadas basados en una sola determinación de valores de Hp. Sin embargo, por la relación tan estrecha con los factores estresantes, los niveles de Hp podrían servir como un primer indicador para la detección de enfermedades sub-clínicas (79).

Los datos obtenidos por Eurell *et al.*, (1992) indicaron que las concentraciones séricas de Hp deberían ser consideradas anormales cuando sobrepasan la media de la piara por dos desviaciones estándar (79).

También serían aplicados para identificar enfermedades sub-clínicas u otros factores estresantes, mientras que tratamientos efectivos y/o estrategias de manejo podrían ser aplicadas (79).

El objetivo de Francisco *et al.*, 1996 fue examinar las concentraciones séricas de Hp en cerdos destetados que fueron expuestos a estresores típicos de producción y después evaluaron como la Hp podría ser usada como un indicador del estrés en los cerdos. Las concentraciones séricas de Hp fueron monitoreadas semanalmente en cerdos de 2 y 3 semanas de edad y los estresores examinados fueron: edad al destete, densidad de corral, y espacio de comedero. La ganancia diaria de peso (GDP) fue también evaluada en cada grupo para comparación (78).

Se formaron dos grupos de 32 cerdos cada grupo fue dividido aleatoriamente en 4 corraletas de destete (ocho cerdos por corraleta). El grupo uno fueron lechones destetados a los 14 días de edad y el grupo dos fueron cerdos destetados a los 21

de edad. Las muestras sanguíneas fueron colectadas por venopunción de cada cerdo a los 0, 7, 14, 21, y 28 días post-destete (78).

Para cuantificar las concentraciones séricas de Hp, se usó una modificación del método de capacidad de fijación del complejo metahemoglobina-cianuro (CHBC mg por ml) (78).

Las concentraciones no se incrementaron o decrecieron durante el período de evaluación, aunque la tendencia fue de incrementar (Figura 20). Se obtuvo la media de concentración de Hp para analizar los efectos de cada uno de los factores analizados (Figura 21). La interacción entre la densidad de animales y el espacio de comedero fue significativa ( $P < 0.05$ ), indicando que el efecto de espacio de comedero sobre las concentraciones de Hp depende de la densidad animal. Altas densidades, espacio ilimitado de comedero fue asociado con concentraciones bajas de Hp, mientras que las bajas densidades, espacio ilimitado de comedero fue asociado con altos niveles de Hp. La edad al destete fue altamente significativa ( $P < 0.0001$ ). Los cerdos destetados a las dos semanas tuvieron concentraciones más bajas de Hp (78).

Sólo se obtuvo la GDP para determinar los efectos de los factores estresantes sobre el desempeño. Cuando se analizó la GDP, se detectó una significativa interacción entre edad al destete y la densidad animal ( $P < 0.05$ ) (Figura 22). Para los cerdos destetados a las 3 semanas, las bajas densidades fueron asociadas con altas GDP, mientras que no hubo efecto aparente de la densidad para cerdos destetados a las 2 semanas (78).

Las concentraciones de cortisol fueron significativamente altas. Si los destetes tempranos incrementan los valores basales de cortisol y la concentración de Hp está influenciada por glucocorticoides, se esperarían concentraciones elevadas de Hp en el grupo de destete temprano. En el estudio realizado por Francisco *et al.*, (1996) los niveles de Hp fueron muy bajos en los cerdos de destete temprano. La hipótesis de los autores fue que los destetes tempranos están asociados con la reducción del comportamiento agresivo. Las concentraciones de Hp pueden incrementarse debido a condiciones inflamatorias no específicas. Cualquier causa de inflamación, incluyendo traumatismos, puede generar una respuesta de fase aguda. Si cerdos más jóvenes así como más pequeños son menos agresivos, el grado de inflamación post-destete quizá sería más bajo (78).

Los anticuerpos maternos pueden también influir en las concentraciones séricas de Hp en los cerdos destetados tempranamente. El destete temprano puede prevenir la transmisión de agentes infecciosos si los anticuerpos maternos están presentes en el cerdo destetado. El resultado es cerdos sanos sin incrementos en las concentraciones de PFAs. Los cerdos en el experimento estuvieron sanos; sin embargo, si una enfermedad sub-clínica se hubiera presentado en el grupo de destete a las 3 semanas, uno podría esperar elevaciones en las concentraciones séricas de Hp (78).

Las concentraciones de Hp no cambiaron significativamente durante el experimento. Sin embargo, la Hp se elevó inmediatamente después del destete, y presentó una tendencia a incrementar. Las fluctuaciones en los niveles de Hp pueden indicar variaciones fisiológicas o adaptación por parte del animal.

Cambiando los tiempos de muestreo puede brindarnos información más precisa acerca de los cambios temporales de esta proteína de fase aguda. Efectos remanentes, como el estrés por contención o inflamación causado por el muestreo sanguíneo, debe ser tomado en cuenta por si se considera un muestreo más corto en intervalos de tiempo (78).

Los valores normales en la concentraciones de Hp en cerdos libres de patógenos específicos de cuatro meses de edad fueron de 5.79 mg por dL (78).

La densidad de corral puede no afectar la GDP en destetes tempranos si el espacio de comedero es adecuado (78).

Estos estudios demostraron que la alta correlación entre la Hp con las GDP, aunado a la relación estrecha entre sus elevadas concentraciones y la presencia de factores estresantes, se infiere que la Hp es un buen indicador del estrés animal y sus repercusiones en los parámetros productivos.

### 3.5.5 Nutrición.

Cuando se desarrollan estrategias productivas que minimizan los desafíos inmunológicos, es importante determinar si la reducción de la tasa de crecimiento es resultado de un decremento en el consumo de alimento y/o los nutrientes se canalizan a la respuesta inmune. Estas dos causas tienen diferentes costos económicos (80).

Por lo anterior Dritz *et al.*, (1995) tuvieron como objetivo examinar la influencia de un desafío inmune mediante la inyección de lipopolisacárido (LPS) y la complejidad de una dieta de destete sobre la tasa de crecimiento y la producción de PFAs de cerdos bajo el sistema de destete temprano segregado (80).

Cerdos con un peso inicial de 3.9 Kg y  $14 \pm 1.5$  días de edad fueron usados para cuantificar los efectos de un desafío inmune inducido por LPS y la complejidad de una dieta (compleja, media, sencilla) sobre el desempeño del crecimiento y producción de Hp. Los tres tratamientos del desafío inmune consistieron en: 1) proporcionar el alimento a libre acceso (*ad libitum*) (control), 2) desafío con LPS y alimentación *ad libitum* (desafío-LPS), 3) recibieron la misma cantidad de alimento que hubieran consumido los del desafío de LPS (alimentación-emparejada) (80).

No encontraron interacciones entre el estado inmunológico y la complejidad de la dieta ( $P > .10$ ), indicando que las respuestas fueron independientes. Sin embargo, si el modelo de estimulación por LPS es representativo de la interacción de los inmunoestimulantes presentes en muchas de las granjas comerciales, estos

resultados indicarían que el estado inmune no necesita ser tomado en cuenta cuando se determina la apropiada complejidad de las dietas de destete (80).

No se presentaron interacciones por dieta y estado inmune ( $P > .10$ ) para las concentraciones de Hp. Los cerdos inyectados con el LPS tuvieron concentraciones medias de Hp más altas ( $P > .01$ ) que los animales control y alimentación-emparejada (Cuadro 15). La dieta no tuvo un efecto ( $P > .10$ ) sobre las concentraciones de Hp (80).

Cuadro 15. Influencia de un desafío con LPS y la complejidad de una dieta sobre la tasa de crecimiento y las concentraciones de haptoglobina.

Medición	Control			Desafío con LPS			Alimentación-emparejada			Valor P (P<)		
	Comp	Med	Simp	Comp	Med	Simp	Comp	Med	Simp	Inmune	Dieta	CV
<b>Día 5 a 18 post-destete</b>												
GDP, Kg	0.37	0.33	0.28	0.27	0.25	0.22	0.29	0.29	0.24	0.01	0.01	9.4
CDA, Kg	0.40	0.37	0.34	0.30	0.28	0.26	0.29	0.28	0.26	0.01	0.01	6.8
CA	1.09	1.12	1.19	1.10	1.13	1.19	1.03	0.98	1.08	0.01	0.01	6.7
<b>Día 18 al 32 post-destete</b>												
GDP, Kg	0.57	0.56	0.58	0.54	0.54	0.56	0.56	0.55	0.55	0.14	0.52	5.8
CDA, Kg	0.84	0.82	0.88	0.78	0.81	0.85	0.88	0.81	0.88	0.07	0.03	6.9
CA	1.49	1.46	1.52	1.44	1.49	1.51	1.57	1.46	1.59	0.27	0.14	6.6
<b>Día 5 al 32 post-destete</b>												
GDP, Kg	0.47	0.45	0.44	0.41	0.40	0.39	0.43	0.43	0.41	0.01	0.01	4.9
CDP, Kg	0.63	0.61	0.62	0.55	0.55	0.57	0.60	0.55	0.58	0.01	0.17	5.7
CA	1.34	1.34	1.42	1.33	1.39	1.44	1.39	1.30	1.43	0.8	0.01	5.6
<b>Peso de los cerdos, Kg</b>												
d 18 post-DTT	9.71	9.30	8.62	8.48	8.21	7.80	8.71	8.71	8.12	0.01	0.01	4
d 32 post-DTT	17.69	17.10	16.69	16.01	15.79	15.60	16.51	16.37	15.88	0.01	0.01	3.5
<b>Haptoglobina</b>												
mg/dL	10.7	8.7	10.5	28	19.4	22.4	7.8	6.4	11.7	0.01	0.17	112

Todos los cerdos fueron alimentados con una dieta compleja común del día 0 al 5 post-destete. Después los cerdos fueron alimentados con las dietas, compleja, media, simple del día 5 al 18 post-destete. Todos los cerdos fueron alimentados con una dieta común del día 18 al 32 post-destete. Los cerdos fueron desafiados con una inyección de LPS (68 µg/lb) en los días 5, 8, 11, y 14 post-destete. El peso del día 5 se usó como covariante. Cada número representa la media de 6 corrales con 5 cerdos por corral. Los cerdos que se usaron pesaban 8.8 lb y 14 ± 1.5 días al destete.

Fuente: Dritz *et al.*, (1996)

El LPS es un potente estimulador de la producción de citocinas inflamatorias que generan la producción de PFAs. Entonces, los incrementos en las concentraciones de Hp en los cerdos que fueron inyectados con LPS indican incrementos en la producción de citocinas inflamatorias. Sin embargo, la ausencia de la influencia de la dieta sobre las concentraciones de Hp sugiere que la complejidad de la dieta no influye en el consumo de alimento por alteración del balance de las citocinas inflamatorias (80).

La respuesta fisiológica en el cerdo seguido de un desafío con LPS ha sido bien caracterizada en relación con las alteraciones en las concentraciones séricas de varias hormonas y citocinas, cambios en la temperatura corporal y reducción en el consumo de alimento. Las reducciones en el consumo de alimento es dosis dependiente en intensidad y duración. Esta respuesta a un desafío por LPS es típicamente aliviada después de un periodo de 24-48 horas (81).

Por ello y debido a su importancia, Frank *et al.*, (2005) tuvieron como objetivo evaluar el consumo alimenticio y la respuesta de las PFAs en dos géneros y líneas maternas de cerdos con un incremento en la dosis de LPS. La respuesta de las PFAs fue relacionada con el consumo alimenticio para determinar si una o más podrían servir como indicador biológico de la activación inmune (81).

Treinta seis cerdos (peso inicial= 21.3 ±0.48 kg) fueron divididos por línea materna y sexo para recibir una de tres dosis de LPS. Este arreglo factorial de 2 x 2 x 3 consistió de dos líneas maternas (línea 1 y 2) y dos sexos (castrados y remplazos) y tres niveles de LPS. Los tratamientos consistieron en una sola inyección de 0



(LPS-0), 25 (LPS-25) o 50  $\mu\text{g}$  LPS/kg de peso corporal (PC) (LPS-50). Los cambios agudos en el consumo de alimento fueron relacionados con el consumo de alimento base antes de la inyección. Los comederos fueron pesados diariamente para establecer el consumo de alimento (consumo diario promedio -48 a 0 horas antes de la inyección). La respuesta aguda en el cambio del consumo de alimento fue calculada como el consumo diario promedio de 0-48 horas después de la inyección dividido entre el consumo base (81).

Los cerdos del tratamiento LPS-0 crecieron más rápidamente y consumieron más alimento que los del tratamiento LPS-25 o LPS-50 (0.79 kg/d contra 0.51 y 0.50 kg/d; 1.15 kg/d contra 0.96 y 0.89 kg/d, respectivamente;  $P < 0.001$ ). Los cambios en el consumo de alimento de la línea 1 castrados y línea 2 reemplazos fue similar a los tratamientos LPS-25 y LPS-50, mientras que la línea 1 reemplazos y línea 2 castrados habían disminuido el cambio en la respuesta aguda en el consumo de alimento con el incremento de la dosis de LPS (sexo x línea x LPS,  $P < 0.05$ ). Tres de los cerdos castrados murieron pero de las cerdas reemplazo ninguna murió seguido del desafío con LPS ( $P < 0.10$ ) (81).

La línea 1 de cerdos tuvieron los niveles más altos de CRP comparado con los cerdos de la línea 2 ( $P < 0.05$ ) en el día 0. Sin embargo, no hubo diferencias observadas en las concentraciones del día 2 (81).

Las concentraciones de SAA al día 0 no fueron diferentes para ningún tratamiento. Las concentraciones al día 2 se incrementaron cuadráticamente con los incrementos en la dosis de LPS ( $P < 0.02$ ) (81).

Las concentraciones de la ceruloplasmina (Cp) no fueron diferentes ni al día 0 ni al día 2 en cualquier tratamiento. Sin embargo, se observaron diferencias en las concentraciones de Cp entre el tipo de línea y sexo. La línea 2 de cerdos tuvo un incremento en la concentración de Cp, mientras que la Línea 1 mostro un decremento en las concentraciones. Adicionalmente, los cerdos castrados tuvieron mayores cambios en la concentración de Cp que las cerdas para remplazo ( $P < 0.05$ ) (81).

No se observaron diferencias ni cambios en las concentraciones de Hp entre líneas o dosis de LPS en el día 0 y día 2. Los cerdos castrados tuvieron mayores concentraciones de Hp al día 0 comparados con las cerdas de remplazo ( $P < 0.03$ ). Además, se observó una interacción de sexo-línea para las concentraciones de Hp en el día 2 ( $P < 0.05$ ) (Cuadro 16) (81).

Cuadro 16. Concentración de proteínas de fase aguda en dos líneas maternas de cerdos seguido de un desafío incrementando los niveles de lipopolisacárido (LPS).

	Línea 1						Línea 2						S.E.M.	Significancia
	Castrados			Remplazos			Castrados			Remplazos				
	0	25	50	0	25	50	0	25	50	0	25	50		
CRP (µg/ml)														
d 0	262	76	137	106	243	203	57	108	147	55	59	73	72	D*
d 2	212	38	52	129	79	89	67	121	172	57	127	71	68	
Cambio	-50	-38	-85	23	-164	-114	10	12	25	3	68	-2	91	
SAA (µg/ml)														
d 0	214	21	76	29	179	49	38	0	29	44	34	0	78	
d 2	256	721	880	50	660	1172	187	980	1064	156	1409	682	239	T~
Cambio	43	700	804	21	481	1123	149	980	1036	112	1374	682	243	T~
Cp (mg/100ml)														
d 0	778	770	619	552	792	724	724	736	701	636	659	649	103	
d 2	822	895	611	548	659	662	781	913	899	673	853	720	112	S*
Cambio	45	126	-8	-4	-134	-62	58	177	198	37	194	71	65	D°, S*
Hp (uoa/mg de proteína)														
d 0	19.3	25.8	11.8	13.7	17.7	17.4	11.9	24.8	14.9	10.3	8.9	11	3.6	D^, S*, T^
d 2	31.8	42.7	19.5	15.3	16.4	16.4	9.7	18.1	20.3	16.7	20.4	20	7.4	S X D*
Cambio	12.5	16.9	7.7	1.6	-1.3	-0.9	-2.2	-6.7	5.4	6.4	11.5	9.6	7.2	S X D*

<sup>a</sup> Tres cerdos por línea, sexo y dosis de LPS fueron alojados individualmente y libre acceso al alimento y agua provista. CRP, proteína C-reactiva; SAA, amiloide sérico A; Cp, ceruloplasmina; Hp, haptoglobina. Cambio: d 2 menos d 0 concentración de proteína de fase aguda.

<sup>b</sup> D, línea materna; S, sexo; T, dosis de LPS; X, una interacción entre efectos principales. Significancia ^P < 0.10, \*P < 0.05, °P < 0.01, ~P < 0.001.

<sup>c</sup> Incremento lineal (P < 0.001)

<sup>d</sup> Incremento cuadrático (P < 0.02).

<sup>e</sup> uoa/mg de proteína: unidades de absorción/ mg de proteína.

Fuente: Frank *et al.*, (2005)

En general los cerdos castrados parecieron ser más sensibles al desafío por la endotoxina que las cerdas de remplazo. El SAA, pero no otras PFAs evaluadas, fue un buen indicador de la activación del sistema inmune seguido de un desafío con LPS cuando se compara con los cambios agudos en el consumo alimenticio (81).

Con un objetivo similar pero en un escenario distinto Piñeiro *et al.*, (2006) diseñaron un experimento, que incluía un total de 240 cerdos, de 74 días de edad, la mitad machos y mitad hembras, con el objetivo de evaluar los efectos del estrés causado por cambios en el patrón de la administración de alimento sobre las concentraciones de las PFAs y parámetros de desempeño productivo. La mitad de los animales (cerdos alimentados *ad libitum*, tratamiento AL) tuvieron acceso libre

al alimento, mientras que el resto fue alimentado siguiendo un patrón desordenado (tratamiento DIS), en el cual los animales tuvieron períodos alternados de acceso libre al alimento y períodos de no acceso. Los períodos de libre acceso al alimento (dos períodos diarios, de dos horas de duración) fueron aleatoriamente asignados, y variaban de día en día. El total de alimento ofrecido por día fue idéntico en ambos grupos, y excedía la cantidad mínima requerida para animales de esta edad (82).

El consumo de alimento por corral, el peso corporal individual y las principales PFAs positivas (Pig-MAP, Hp, SAA, CRP), y PFAs negativas (apolipoproteína A-I (ApoA-I) y TTR) fueron determinadas cada 2 semanas durante el período comprendido entre los 76 a los 116 días de edad (82).

Los animales alimentados *ad libitum* tuvieron mejores ganancias diarias de peso (GDP) que los animales DIS durante todo el período experimental ( $p < 0.01$ ) pero las diferencias en la GDP fueron solo producidas en los dos primeros sub-períodos (60 a 74 y 74 a 116 días de edad), sugiriendo que el estrés disminuyó cuando los animales se acostumbraron al patrón de alimentación desordenado. Se encontraron diferencias interesantes en la GDP entre los animales machos del grupo DIS y los del grupo AL, mientras que no hubo diferencias observadas entre las hembras de ambos grupos (Cuadro 17) (82).

Cuadro 17. Parámetros productivos en diferentes periodos experimentales \*

	Periodos experimentales (días de edad)											
	74-88			88-102			102-116			74-116		
	GDP	CA	CDA	GDP	CA	CDA	GDP	CA	CDA	GDP	CA	CDA
Grupo AL												
machos	523 <sup>a</sup>	1.96	0.95 a	577	1.91	1.05	652	2.28	1.42	591	2.06	1.13
hembras	439 <sup>b</sup>	2.36	0.99 a	627	2.05	1.25	681	2.26	1.5	593	2.19	1.24
Grupo DIS												
machos	398 <sup>b</sup>	2.61	0.82 b	513	2.37	1.09	676	2.32	1.51	537	2.36	1.12
hembras	445 <sup>b</sup>	2.11	0.91 ab	574	2.03	1.13	656	2.4	1.52	559	2.19	1.18
s.e	22.0	0.263	0.032	32.2	0.129	0.056	31.3	0.106	0.062	21.1	0.096	0.032
Significancia												
tratamiento	**		**	¥	¥					*		
sexo			¥	¥		*						*
interacción	**				¥							

a, b Medias dentro de una columna teniendo una diferente letra en superíndice difieren significativamente ( $p < 0.05$ ).

\* Las abreviaciones son: AL: cerdos control alimentados ad libitum, DIS: cerdos alimentados siguiendo un patrón desordenado, GDP: ganancia diaria de peso (g/día), CA: conversión alimenticia (kg/kg), CDA: consumo diario de alimento (kg/día).

¥ Acercándose a la significancia ( $p < 0.01$ )

Fuente: Piñeiro C. *et al.*, (2006).

Las mismas diferencias observadas para la GDP fueron encontradas para las PFAs. En el caso de los machos en el tratamiento DIS, la concentración de Pig-MAP permaneció elevada comparada con la de los animales del tratamiento AL a los 88 y 102 días de edad, mientras que no se encontraron diferencias significativas entre tratamientos en las hembras. El SAA fue también numéricamente mayor en los machos del tratamiento DIS a los 88 días de edad pero las diferencias no fueron significativas debido a la gran distribución de los valores mostrados por esta proteína en todos los tiempos de muestreo diferentes a los 116 días de edad. Los machos del tratamiento DIS mostraron concentraciones medias más altas de CRP y haptoglobina que los machos del tratamiento AL a los

102 días de edad. No se encontraron diferencias significativas entre tratamientos en el caso de las hembras. (Figura 23) (82).

Los resultados obtenidos por Piñeiro *et al.*, (2006) en este experimento mostraron una relación inversa entre ganancia de peso y niveles de PFAs, y sugieren que las PFAs pueden ser biomarcadores para la evaluación del estrés y bienestar en cerdos (82).

### **3.5.6 Transporte y Manejo.**

En el transporte de cerdos está inherente el estrés y está generalmente por circunstancias inevitables como por ejemplo la carga y descarga del camión, la vibración producida, restricción del espacio, mezclado con otros animales, poca ventilación, y privación de alimento y agua. Todos estos factores pueden ser altamente estresantes y comprometer el bienestar. El bienestar de los animales durante el transporte hacia el rastro es importante por el impacto del estrés en la calidad de la canal y el valor del producto final, y también por el incremento de la conciencia en el consumidor respecto a la ética con que se obtiene la carne que estos consumen. Aun más, el estrés puede resultar en un incremento de la incidencia de enfermedades (83).

Diferentes parámetros han sido usados para evaluar el bienestar durante el transporte; recientemente, ha sido sugerido que las PFAs pueden ser también útiles en la evaluación del bienestar animal (83).

Por todo lo anterior, Piñeiro.M *et al.*, (2006) tuvieron como objetivo evaluar la respuesta de las PFAs después de un transporte de cerdos prolongado bajo condiciones comerciales (83).

En el primer estudio (Experimento 1), dos grupos de machos Landrace (10 meses de edad, 150 kg peso corporal (PC)) fueron transportados por carretera hacia Segovia, España por un periodo de 24 horas (transporte 1; 16 animales; provenientes de Buggenhout, Bélgica) o 48 horas (transporte 2; 32 animales; provenientes de Burythorpe, North Yorkshire, UK). Transporte 1 fue considerado para ofrecer condiciones bajas de transporte ( $1.5 \text{ m}^2/\text{macho}$ , sin aserrín, sin proveer alimento y agua) mientras que el Transporte 2 se les proveyó condiciones superiores de transporte ( $2 \text{ m}^2/\text{macho}$ , con aserrín, alimento y agua a libre acceso) (83).

Las muestras sanguíneas fueron obtenidas por venopunción de la vena cava inmediatamente después del desembarque de los cerdos, y como muestra control se muestrearon alrededor de un mes más tarde cuando los animales dejaron la cuarentena (83).

En el segundo estudio (Experimento 2), un grupo de 240 cerdos (Large White x Landrace; 100 kg peso corporal (PC), 165 días de edad) fueron transportados comercialmente por carretera de la granja hacia el rastro a una distancia de alrededor 700 km. El viaje duro 12 horas, y las condiciones consideradas fueron las estándares para el transporte comercial ( $0.35 \text{ m}^2/\text{cerdo}$ ) (83).

Un día antes del transporte se seleccionaron aleatoriamente 20 cerdos (10 machos y 10 hembras), al día siguiente los animales fueron embarcados en el camión, y transportados por alrededor de 12 horas. Los animales fueron muestreados inmediatamente después de desembarcados y una vez más en el rastro después de 6 horas en los corrales del mismo (83).

Las concentraciones de Hp, albumina y ApoA-1 fueron determinadas por inmunodifusión radial en gel de agarosa que contenía un antisuero específico (83).

En el experimento 1, la concentración de CRP fue determinada por inmunodifusión radial y en el Experimento 2 por una prueba ELISA (83).

La concentración de Pig-MAP fue determinada por una prueba ELISA tipo sándwich (Pig-MAP kit ELISA, PigCHAMP Pro Europa S.A). El SAA fue evaluado usando un kit comercial Phase SAA Assay (Tridelta Development Ltd.). La TTR fue determinada usando una prueba ELISA de diseño propio (83).

La concentración media de las PFAs estudiadas en el Experimento 1 está mostrada en el Cuadro 18. La concentración de Pig-MAP en las muestras control obtenidas un mes después del transporte, fueron similares en ambos transportes (0.95 mg/ml), sin embargo Pig-MAP mostró niveles más altos en las muestras obtenidas inmediatamente después del embarque en el Transporte 1 (3.28 mg/ml) que en el Transporte 2 (1.39 mg/ml). La Hp siguió un patrón similar, aunque las diferencias entre ambos transportes no fueron tan marcadas. En el caso del Transporte 2, no hubo diferencias significativas en la concentración de Hp, entre ambos puntos de muestreo (83).



Cuadro 18. Valores medios de las proteínas de fase aguda, proteína total y concentraciones de cortisol en sueros de los animales del transporte 1 (condiciones promedio) y transporte 2 (condiciones superiores) en el Experimento 1.

	A la llegada	1 mes, más tarde	Valor de P
Transporte 1 (n= 16)			
Pig-Map (mg/ml)	3.28 ± 1.50	0.94 ± 0.24	0.0004
Hp (mg/ml)	1.15 ± 0.54	0.48 ± 0.50	0.0011
CRP (µg/ml)	19.5 ± 12.8 (15)*	15.6 ± 9.0 (6)*	-
Albúmina (mg/ml)	29.0 ± 2.2	25.2 ± 3.6	0.0858
Proteína Total (mg/ml)	91.5 ± 3.3	82.9 ± 7.4	0.382
Cortisol (ng/ml)	29.0 ± 17.0	28.9 ± 11.3	1
Transporte 2 (n= 32)			
Pig-Map (mg/ml)	1.39 ± 0.75	0.96 ± 0.14	0.001
Hp (mg/ml)	0.75 ± 0.31	0.65 ± 0.33	0.532
CRP (µg/ml)	22.5 ± 14.8 (12)*	17.0 ± 5.3 (5)*	-
Albúmina (mg/ml)	29.1 ± 2.1	25.8 ± 2.5	0
Proteína Total (mg/ml)	88.8 ± 6.9	79.9 ± 6.2	0.0003
Cortisol (ng/ml)	26.2 ± 17.0	25.8 ± 11.0	0.857
N: numero de animales			

\* Numero de valores por arriba del límite de detección del ensayo (7µg/ml). Valor P, Prueba de Wilcoxon de pares igualados en Transporte 1 y prueba t-pareada, prueba de dos colas (Pig-MAP, cortisol, Hp) o prueba Wilcoxon de pares igualados (albúmina, proteína total) en Transporte 2.

Fuente: Piñeiro M. *et al.*, (2006)

La concentración de CRP también se incrementó después del transporte, aunque la sensibilidad de la técnica usada no permitió la cuantificación de todas las muestras y posteriormente no fue posible determinar la magnitud del incremento. En el Transporte 1, la concentración de CRP fue >7 µg/ml en casi todas las muestras obtenidas inmediatamente después del embarque, mientras en el

Transporte 2 solo el 38% de los animales mostraron valores altos en las concentraciones de CRP comparados con el límite de detección del ensayo (83).

En el Experimento 2 la concentración media de las diferentes PFAs estudiadas se muestran en el Cuadro 19. Todas las PFAs positivas (Pig-MAP, Hp, CRP y SAA) mostraron un incremento significativo en la concentración después del transporte, obteniendo los valores más altos en el rastro. La magnitud del cambio en la concentración observado después del transporte varía de una proteína a otra. La concentración media de Pig-MAP se incrementó 2 veces más en la línea del rastro comparada con la del día anterior al transporte. La Hp se incrementó 1.58 veces, CRP 5 veces y SAA 14 veces su valor. La concentración de ApoA-I decreció alrededor del 30% en el día después del transporte, mientras que la TTR no mostró cambios significativos con respecto a los valores obtenidos en la granja el día anterior al transporte (83).

Las concentraciones de CRP y Hp fueron significativamente más altas en hembras que en machos, pero los cerdos machos tendieron a tener concentraciones más altas de Pig-MAP (83).

Concluyeron que la concentración de las PFAs en los cerdos puede ser significativamente modificada después de un transporte prolongado por carretera. Los datos obtenidos sugieren que la respuesta de las PFAs está relacionada con la calidad del transporte (83).

Cuadro 19. Valores mínimos cuadrados de las proteínas de fase aguda y concentración de la proteína total en muestras de suero de los animales del Experimento 2.

		Pig-MAP	SAA	TTR	ApoA-I	Hp	CRP	Proteína total
Antes del viaje	Total	0.78 a	6.8 a	141 a	3.03 a	0.73 a	9.7 a	85 a
	M	0.81	3.7	142	3.12	0.50	3.9	83
	H	0.75	10	141	2.95	0.95	15.9	87
	Total	1.00 a	27.3	140 a	2.24	0.60 a	34.1 b	83 a
Inmediatamente después del viaje	M	1.14	18.4	141	2.26	0.40	14.1	82
	H	0.87	36.2	139	2.22	0.79	50.5	84
Después de 6 horas en corrales	Total	1.60 b	99.1 b	125 a	2.06 b	1.16 b	49.9 c	86 a
	M	1.75	78.4	137	2.17	0.85	35.4	85
	H	1.46	119.9	113	1.95	1.46	64.3	87
	SEM	0.145	26.44	11.9	0.1510	0.215	8.07	2.1
P sexo		0.0739	0.2924	0.3593	0.2490	0.0052	0.0001	0.0998
P tiempo		0.0001	0.0014	0.2735	0.0001	0.0227	0.0001	0.283
P interacción		0.6490	0.7770	0.4949	0.8250	0.8586	0.2857	0.9249

M: machos, H: hembras. Pig-MAP (mg/ml), SAA ( $\mu\text{g/ml}$ ), TTR (ng/ml), ApoA-I (mg/ml), Hp (mg/ml), CRP ( $\mu\text{g/ml}$ ).  
Total de valores (machos + hembras) medias dentro de una columna teniendo una letra diferente en superíndice difieren.

Fuente: Piñeiro M. *et al.*, (2006)

Atendiendo la misma problemática pero con otro diseño experimental Salamano *et al.*, (2007) tuvieron como objetivo investigar los efectos de un transporte de larga distancia sobre las concentraciones séricas de Hp, CRP y Pig-MAP y sus cambios después de un alojamiento de 28 días subsecuente al transporte (9).

80 cerdas de cuatro meses de edad fueron transportadas de Dinamarca hacia Italia en 48 horas y después monitoreadas por 28 días. Los animales fueron lotificados aleatoriamente en cuatro diferentes grupos (A, B, C, D) de 20 cerdas cada uno. Cada grupo fue alojado en un corral 6 x 3.5 m. Agua y alimento fueron proveídos a libre acceso a lo largo de todo el estudio (9).

Las muestras sanguíneas fueron colectadas vía punción de la vena yugular inmediatamente después de la llegada de los animales (T1) y 28 días después

(T28), los animales del grupo C fueron adicionalmente sangrados en los días 14 (T14) mientras que a los del grupo D también se les sangró en los días 3, 5, 14, (T3, T5, T14). En el día 25 (T25), los cerdos del grupo B desarrollaron comportamientos agresivos resultando en mordeduras de cola (9).

Las concentraciones de Hp y CRP fueron determinadas usando kits comerciales (Tridelta Development Ltd.) Las concentraciones de Pig-MAP fueron evaluadas con una prueba ELISA tipo sándwich (PigCHAMP Pro Europa S. A.). Los resultados para la Hp y Pig-MAP fueron expresados como mg/ml mientras que los resultados para CRP como  $\mu\text{g/ml}$  (9).

Las PFAs en el Grupo A fueron significativamente más bajas en el día 28 que en el día 1; lo opuesto ocurrió en el Grupo B por el episodio de mordedura de cola. En el Grupo C, los valores permanecieron elevados en el día 14 y mostró una reducción en el día 28; en el Grupo D niveles elevados se detectaron en el día 14 pero fueron precedidos por una disminución de los días 1 al 5 (Cuadro 20) (9).

Fuente: Salamano et al., (2007)

Cuadro 20. Resumen de valores medios de haptoglobina (Hp), proteína C-reactiva (CRP), y proteína mayor de fase aguda (Pig-MAP) por grupo (A, B, C, D) y por tiempo de colección de la muestra sanguínea (días T1, T3, T5, T14, T28)

	Pig-MAP (mg/ml)					CRP (µg/ml)					Hp (mg/ml)				
	T1	T3	T5	T14	T28	T1	T3	T5	T14	T28	T1	T3	T5	T14	T28
Grupo A															
Media	0.91				0.45	161.02				21.19	1.33				0.67
Grupo B															
Media	0.70				3.06	65.65				372.27	0.60				2.88
Grupo C															
Media	0.75			0.62	0.30	94.07			147.75	35.53	0.85			1.19	0.76
Grupo D															
Media	0.96	1.02	0.68	1.33	1.09	110.73	127.20	102.11	266.85	67.55	0.68	1.25	0.89	2.27	1.82

El número de cerdos muestreados (n) es 20 por cada grupo.

Los resultados obtenidos por Salamano *et al.*, (2007) sugieren que no solo el transporte sino también el estrés por la adaptación a un reacomodo puede causar un incremento en las concentraciones de las PFAs. Por lo tanto, el uso de las PFAs puede ser un parámetro útil para la detección de estrés en los cerdos y para evaluar el bienestar durante el transporte y el manejo de la piara (9).

Petersen *et al.*, (2002b) realizaron un estudio con 617 cerdos en finalización con edades comprendidas entre las 10 a 25 semanas de edad provenientes de 11 piaras comerciales de diferente estado de salud (convencionales vs SPF). Se les realizó una exploración clínica estandarizada y se tomaron muestras sanguíneas de cada uno de los cerdos para determinar las concentraciones séricas de Hp (35).

No se encontraron signos de rinitis atrófica. Se encontraron signos respiratorios principalmente en piaras convencionales (Cuadro 21). Cerdos con signos de problemas en patas y mordedura de cola u oreja presentaron concentraciones más altas que los cerdos sacrificados sin signos clínicos de enfermedad. Para todos los grupos de edades, las piaras convencionales presentaron significativamente niveles más altos comparados con los cerdos de piaras SPF (Cuadro 22) (35).

La mayoría de las muestras con bajas concentraciones de Hp fueron obtenidas de piaras SPF (Cuadro 23) (35).

Cuadro 21. Número de cerdos con signos clínicos y prevalencias específicas por piara (%) de cerdos (n= 617).

Piara	Tipo	Estado	n	Porcentaje %					
				Diarrea	Cojeras	Signos Nerviosos	Signos Respiratorios	Mordedura de cola u oreja	Hemia Umbilical
1	Cría	SPF	61	2	5	2	2	3	3
2	Cría	SPF	56	0	5	0	0	2	5
3	Cría	SPF	59	5	7	0	0	7	0
4	Cría	SPF	60	0	3	0	0	3	0
5	Cría	SPF	60	0	3	0	2	13	0
6	Cría	SPF	52	0	4	0	2	10	4
7	Cría	SPF	49	0	6	0	2	2	4
8	Parto-a-Finalización	Convencional	46	0	11	0	11	0	0
9	Finalización	Convencional	50	0	8	0	8	8	0
10	Finalización	Convencional	64	0	13	4	17	0	2
11	Finalización	Convencional	60	0	8	0	27	0	0

La prevalencia está dada en porcentaje de cerdos con cada uno de los signos clínicos del total de número de cerdos muestreados en cada piara.

Fuente: Petersen *et al.*, (2002b)

Cuadro 22. Concentraciones séricas de haptoglobina (mg/ml) en 617 cerdos en finalización sometidos a una evaluación clínica estándar.

Variable	SPF (n= 396)				Convencionales (n= 221)			
	n	Cuartil			n	Cuartil		
		1	2	3		1	2	3
Sin signos clínicos								
10-14 semanas	127	0.08	0.13	0.73	56	0.41	0.85	1.57
15-19 semanas	108	0.08	0.29	0.93	43	0.46	0.86	1.69
20-25 semanas	107	0.18	0.54	1.14	58	0.56	0.93	1.56
Signos clínicos								
Diarrea	4	-	1.12	-	0	-	-	-
Cojeras	15	0.56	1.64	3.02	19	0.92	2.12	2.78
Signos nerviosos	1	-	0.3	-	3	-	1.99	-
Signos respiratorios	3	-	0.45	-	34	0.67	1.29	2.34
Mordedura de cola u oreja	19	1.45	2.62	2.99	4	-	0.89	-
Hernia umbilical	7	0.08	0.51	0.69	1	-	1.97	-
> 1 signo clínico	5	-	4.32	-	3	-	2.51	-

Fuente: Petersen *et al.*, (2002b)

Cuadro 23. Concentraciones séricas de haptoglobina específicas de las piaras evaluadas.

Piara	Tipo	Estado	No. De cerdos	Mín.	Med.	Máx.	Media Geométrica
1	Cría	SPF	61	0.08	0.11	3.72	0.18a
2	Cría	SPF	56	0.08	0.28	3.55	0.28ab
3	Cría	SPF	59	0.08	0.11	3.29	0.20ab
4	Cría	SPF	60	0.08	1.14	5.78	0.67c
5	Cría	SPF	60	0.08	0.22	5.16	0.29abd
6	Cría	SPF	52	0.19	1.13	5.03	1.14c
7	Cría	SPF	49	0.08	0.80	5.77	0.80c
8	Parto-Finalización	Convencional	46	0.08	0.83	5.28	0.73bc
9	Finalización	Convencional	50	0.08	0.97	4.56	0.71bc
10	Finalización	Convencional	64	0.08	1.21	3.66	1.08cd
11	Finalización	Convencional	60	0.11	1.10	5.43	0.99cd

<sup>a</sup> Medias Geométricas con una letra en común no son significativamente diferentes ( $p > 0.05$ )

Fuente: Petersen *et al.*, (2002b)

Se observó un efecto por edad en las piaras convencionales que puede indicar infecciones sub-clínicas. Los cerdos en finalización con problemas de aplomos y de mordedura de cola u oreja tuvieron mayores concentraciones que los cerdos sin ningún signo clínico. Y no se observó efecto por signos respiratorios o por hernia umbilical. Concluyeron que el tipo de piara influyó sobre la concentración de Hp (35).

En otro estudio similar de casos-control en 340 cerdos en finalización (170 casos y 170 controles) de 10 a 25 semanas en 15 piaras comerciales Danesas Petersen *et al.*, (2002) investigaron las concentraciones séricas de Hp como un marcador de signos clínicos de enfermedad. Cerdos con diferentes signos clínicos fueron emparejados con cerdos control sin signos clínicos con respecto a tipo de piara, corral, peso estimado, y sexo, y cada cerdo se sometió a una evaluación clínica estándar (32).



Cerdos con signos respiratorios, problemas de patas y mordedura de oreja o cola tuvieron concentraciones y temperaturas significativamente más altas que los controles (Cuadro 24 y 25) (32).

Cuadro 24. Mediana y media (ds) de las concentraciones séricas de haptoglobina (mg/ml) para los casos y controles.

Signos Clínicos	Casos		Controles		Número de pares	P
	Mediana	Media (ds)	Mediana	Media (ds)		
Diarrea	1.61	1.42 (0.81)	0.71	0.76 (0.72)	13	0.02
Cojeras	2.36	2.19 (1.22)	0.44	0.74 (1.07)	53	< 0.0001
Signos respiratorios	1.34	1.41 (0.96)	0.74	0.90 (0.76)	69	0.0004
Mordedura de cola u oreja	1.95	1.99 (1.46)	0.61	0.91 (0.72)	28	0.0004
Abscesos	1.26	1.55 (0.91)	1.18	1.06 (0.27)	3*	
Hernia Umbilical	1.56	1.59 (0.85)	0.18	0.41 (0.58)	4*	
* Muy pocos pares para análisis						

Fuente: Petersen *et al.*, (2002)

Cuadro 25. Mediana y media (ds) de las temperaturas rectales (°C) de los casos y controles.

Signos Clínicos	Casos		Controles		Número de pares	P
	Mediana	Media (ds)	Mediana	Media (ds)		
Diarrea	39.9	39.8 (0.2)	39.6	39.6 (0.1)	9	NS
Cojeras	40	40.0 (0.2)	39.4	39.4 (0.1)	22	< 0.0001
Signos respiratorios	39.9	39.9 (0.3)	39.6	39.5 (0.1)	34	0.002
Mordedura de cola u oreja	40	39.8 (0.1)	39.6	39.5 (0.1)	17	0.0003
Abscesos	39.4	39.5 (0.2)	39.8	39.6 (0.1)	3*	
Hernia Umbilical	-	-	-	-	1*	
* Muy pocos pares para análisis						
NS No significativa						

Fuente: Petersen *et al.*, (2002)

Cerdos con diarrea tuvieron concentraciones más altas, sin embargo no hubo diferencia en las temperaturas rectales; y los niveles fueron generalmente más bajos que los cerdos con signos clínicos de problemas en patas, mordeduras de cola u oreja. Los cerdos con diarrea fueron un grupo heterogéneo, con un rango de diarrea medianamente acuosa a diarrea sanguinolenta severa, y esta heterogeneidad pudo haber influido los resultados (32).

Hubo una significativa pero baja correlación entre las temperaturas rectales y las concentraciones séricas de Hp ( $P=0.003$ ,  $r=0.20$ ). Sin embargo, no fue posible establecer un valor de haptoglobina que permitiera discriminar entre cerdos con y sin signos clínicos de enfermedad (32).

Heinonen *et al.*, (2006) realizaron un estudio de casos control que fue llevado a cabo para examinar tres diferentes PFAs, CRP, SAA, y Hp en cerdos en finalización con mordedura de cola y sus respectivos controles (84).

Los animales para este estudio fueron obtenidos de una piara de finalización con un problema frecuente de mordeduras de cola. Doce casos de mordedura de cola en cerdos (8 machos castrados y 4 hembras) fueron seleccionados antes de ser transportados al rastro. Los cerdos estaban clínicamente libres de cualquier otra enfermedad. También se seleccionaron trece animales controles clínicamente sanos (8 machos castrados 5 hembras) de corrales donde no había problema de mordeduras en cola (84).

Las muestras sanguíneas fueron tomadas al momento del desangrado durante el proceso de faenado. Las colas de los cerdos fueron colectadas inmediatamente después del faenado (84).

La inflamación en la cola fue evaluada histológicamente. La clasificación de las lesiones se basó en la profundidad e intensidad de la inflamación (Inf.) (Clasificación: 0=no Inf., 1=Inf. Perivascular media, 2= Inf. Sobre la dermis, 3= Inf. En medio de la dermis, 4= Inf. Inflamación profunda en la dermis, 5= Inf. En tejido sub-cutáneo) (84).

SAA y CRP fueron analizadas con un kit comercial de un inmunoensayo tipo sándwich en fase solida (Tridelta Ltd, Ireland). Hp fue determinada usando un ensayo de fijación a la hemoglobina diseñado para bovinos con pequeñas modificaciones; el ensayo fue calibrado usando una muestra de suero de fase aguda porcino como referencia (84).

Los cerdos con mordedura de cola tuvieron altas concentraciones de todas las PFAs estudiadas (Cuadro 26) (84).

Cuadro 26. Concentraciones (media, mínimo - máximo) de Proteína C-reactiva (CRP, mg/l), Amiloide sérico A (SAA, mg/l) y Haptoglobina (Hp, g/l) de 12 cerdos en finalización con mordedura de cola (casos) y 13 animales sanos (control).

	Animales Control	Animales Caso	Valor de p
CRP	65.7 (28.4-180.4)	617.5 (80.5-969.9)	< 0.01
SAA	6.2 (<6.2-21.4)	128.0 (5.0-774.4)	< 0.02
Hp	1.2 (0.9-1.5)	2.8 (1.6-3.6)	< 0.03

Fuente: Heinonen *et al.*, (2006)

La calificación de las lesiones para un caso de mordedura y 11 animales controles fue de 0 ó 1. Similarmente, para 11 casos de mordedura y un animal control la calificación fue de 3 a 5. Cuando las concentraciones de las PFAs fueron evaluadas de acuerdo a la calificación de la lesión en las colas de los animales, fue notorio que las calificaciones más altas alcanzadas, fueron en los animales con concentraciones de PFAs más elevadas (Cuadro 27) (84).

Cuadro 27. Concentraciones de Proteína C-reactiva (CRP, mg/l), Amiloide sérico A (SAA, mg/l) y Haptoglobina (Hp, g/l) de 12 cerdos en finalización con mordedura de cola (casos) y 13 animales sanos (control). Los resultados han sido combinados de acuerdo a la escala de lesión histopatológica de la cola. N= número de animales.

Escala (N)	CRP*	SAA*	Hp*
0 (9)	61.6 (28.4-296.3)	6.2 (<6.2-7.9)	1.3 (1.1-1.7)
1 (3)	109.3 (108.3-80.5)	8.2 (<6.2-21.4)	1.0 (0.9-1.1)
3 (6)	326 (50.3-969.9)	11.3 (<6.2-774.4)	2.7 (1.2-3.4)
4 (3)	625.0 (588.6-755.1)	180.5 (59.0-337.1)	2.9 (2.1-3.6)
5 (3)	764.5 (609.9-837.4)	316.9 (131.5-460.4)	3.4 (2.6-3.5)

\* Media (mínimo - máximo), valores dentro de la misma columna difieren significativamente ( $p < 0.001$ )

Fuente: Heinonen *et al.*, (2006)

Para Heinonen *et al.*, (2006) la mordedura de cola induce una fuerte reacción de fase aguda, la cual fue mayor en varios animales clasificados con profundas inflamaciones en la cola. Las concentraciones de las PFAs podrían ser también una señal de que durante la mordedura de cola existe no solo daño tisular si no también varias infecciones bacterianas verificadas en este estudio por histología (84).

Clapperton *et al.*, (2006) cuantificaron la asociación entre varias PFAs [Hp, AGP, SAA, transtiretina (TTR) y Pig-MAP], en 26 cerdos aparentemente sanos de dos razas, 13 Large White y 13 Meishan (16 machos; 10 hembras). Los cerdos fueron alojados en grupos de cuatro a cinco por corral y todos tenían 21 semanas de edad al momento de la medición. Los cerdos tuvieron alimento y agua a libre acceso y no recibieron ninguna vacuna o una exposición deliberada a un agente infeccioso. Todas las mediciones fueron realizadas a las 21 semanas de edad, con diferencia de una semana entre cada grupo; dentro de cada grupo, todos los animales fueron sangrados en el mismo día, por cada cerdo se colectaron 10 ml de sangre vía yugular externa (85).

La Hp, SAA y AGP fueron medidas usando kits comerciales de acuerdo a las instrucciones del fabricante. Los kits de Hp y SAA fueron obtenidos en Tridelta Development Ltd. El kit para AGP fue obtenido de Metabolic Ecosystem Co. Ltd. (85).

La Pig-MAP fue medida por una prueba ELISA tipo sandwich, usando un método descrito por Piñeiro *et al.*, (2002). La TTR fue medida usando una prueba ELISA de diseño propio, descrita por Campbell *et al.*, (2005) (85).

Entre sus resultados encontraron una correlación significativa entre los niveles plasmáticos de Hp y Pig-MAP ( $r= 0.57$ ;  $p < 0.05$ ) (Cuadro 28), pero no hubo asociaciones significantes entre cualquier otra de las PFAs evaluadas. También midieron la relación entre los niveles de Pig-MAP, TTR y SAA, con la proporción de células periféricas mononucleares sanguíneas, células CD8, células CD4,

células CD11R1, células MHC DQ, y monocitos. Hubo correlaciones entre los niveles plasmáticos de Pig-MAP y la proporción de monocitos ( $r= 0.55$ ;  $p < 0.05$ ) y los niveles plasmáticos de TTR y la proporción de células MHC DQ ( $r= 0.40$ ;  $p < 0.01$ ). La raza y el sexo si influyeron en los niveles de Pig-MAP pero no en los niveles plasmáticos de TTR (Cuadro 29) (85).

Cuadro 28. Coeficientes de correlación (  $r$  ) describiendo la relación entre diferentes proteínas de fase aguda, Hp, AGP, Pig-MAP, TTR y SAA

	Hp	AGP	Pig-MAP	TTR	SAA
Hp	1.000				
AGP	0.040	1.000			
Pig-MAP	0.57*	-0.110	1.000		
TTR	0.260	-0.260	0.030	1.000	
SAA	0.220	-0.010	0.170	0.070	1.000

\*  $p < 0.05$

Fuente: Clapperton *et al.*, (2006)

Cuadro 29. Media estimada y diferencias por raza en los niveles plasmáticos de proteínas de fase aguda, Pig-MAP, transtiretina y amiloide sérico A (SAA) dentro de 13 cerdos Meishan y 13 cerdos Large White y 15 machos y 11 hembras.

Proteína de fase aguda	Media		Diferencia	S.E.D	S.D
	Meishan <sup>a</sup>	Large White <sup>a</sup>			
Pig.MAP (mg/ml)	1.54	0.98	0.56**	0.08	0.54
Transtiretina ( $\mu\text{g/ml}$ )	120.5	105.4	15.1	9.43	22.6
SAA (ng/ml)	16,107	9054	7053	0.644	1.259
Proteína de fase aguda	Media		Diferencia	S.E.D	S.D
	Machos <sup>b</sup>	Hembras <sup>b</sup>			
Pig.MAP (mg/ml)	1.38	1.14	0.24*	0.12	0.54
Transtiretina ( $\mu\text{g/ml}$ )	111.8	114.2	2.4	9.88	22.6
SAA (ng/ml)	10,405	14,017	-3612	0.642	1.259

\*  $p < 0.05$

\*\*  $p < 0.01$

Fuente: Clapperton *et al.*, (2006)

La alta correlación y cinéticas similares entre los niveles de Hp y Pig-MAP se puede deducir del hecho de que ambas solo requieren del estímulo de IL-6 para su óptima inducción, a diferencia de SAA y AGP que requieren tanto de IL-6 e IL-1 para una óptima síntesis (85). En general, sus resultados sugieren una relación cercana entre el mecanismo que regula la liberación de Hp, Pig-MAP y los monocitos, comparados con aquellos que regulan la liberación de AGP, SAA y TTR (85).

### **3.5.7 Inspección de la canal en el rastro.**

Para establecer la relación entre los niveles séricos de tres PFAs; Hp, CRP y SAA, la ocurrencia y severidad de las lesiones a la inspección en rastro, Francisco *et al.*, (2007) llevaron a cabo un estudio usando 70 cerdos de engorda de una unidad de finalización. Los cerdos fueron divididos en tres grupos: Grupo 1 (25 cerdos con signos clínicos de enfermedad), Grupo 2 (25 cerdos aparentemente sanos con lesiones a la inspección en rastro) y Grupo 3 (20 cerdos aparentemente sanos sin lesiones a la inspección en rastro). Los cerdos del Grupo 1 se muestrearon vía vena yugular, después de esto los animales fueron sacrificados para realizar la necropsia. Los grupos 2 y 3 se muestrearon en la línea de sacrificio del rastro; la canal y los órganos fueron examinados cuidadosamente y se tomaron muestras de las lesiones (86).

Los niveles de CRP, SAA y Hp fueron significativamente más altos en los cerdos con signos clínicos de enfermedad que aquellos animales aparentemente sanos. La concentración media de CRP en el Grupo 1 fue 131.2 µg/ml, la cual es 2.1

veces más alta que la del Grupo 2 que fue de 62.7  $\mu\text{g/ml}$  y 2.6 veces mayor que la del Grupo 3 que fue de 50.2  $\mu\text{g/ml}$ ). Hubo diferencias significativas entre el Grupo 1 y 2 ( $P < 0.01$ ), Grupo 1 y 3 ( $P < 0.0001$ ) y Grupo 2 y 3 ( $P < 0.05$ ) (Figura 24) (86).

La concentración media de SAA fue de 18.6  $\mu\text{g/ml}$  en el Grupo 1 y 0.0  $\mu\text{g/ml}$  en el Grupo 2 y 3. Hubo diferencias significativas entre el Grupo 1 y 2 ( $P < 0.01$ ) y entre el Grupo 1 y 3 ( $P < 0.0001$ ). No hubo diferencias significativas entre el Grupo 2 y 3 ( $P = 0.109$ ) (Figura 24) (86).

La concentración media de Hp en el Grupo 1 fue de 2.4 mg/ml y este valor fue 2.4 veces más alto que el del Grupo 2 1.0 mg/ml y 4.8 veces más alto que el Grupo 3 0.5 mg/ml. Hubo diferencias significativas entre los Grupos 1 y 2 ( $P < 0.0001$ ), Grupos 1 y 3 ( $P < 0.0001$ ) y Grupos 2 y 3 ( $P < 0.05$ ) (Figura 24) (86).

Adicionalmente, en los cerdos aparentemente sanos, los niveles séricos de Hp y CRP fueron significativamente más altos en animales con lesiones que aquellos animales sin lesiones (86).

La extensión y la severidad de las lesiones pulmonares fueron relativas a los niveles séricos de Hp. Las concentraciones séricas de PFAs de los cerdos que solo presentaron lesiones en el pulmón (37 cerdos) de los grupos 1 y 2, se agruparon de acuerdo al porcentaje de superficie pulmonar afectada: 1-30% (25 cerdos) y >30% (12 cerdos). Se encontraron diferencias significativas entre estas dos categorías para SAA ( $P < 0.05$ ) y para la Hp ( $P < 0.0001$ ) (Cuadro 30). Así mismo, de estos 37 cerdos que solo presentaron lesiones en el pulmón, se



agruparon de acuerdo a la presencia de uno o más tipos de lesiones pulmonares. Se encontraron diferencias significativas entre estas dos categorías solo para las concentraciones de Hp ( $P > 0.0001$ ) (Cuadro 31) (86).

Cuadro 30. Concentraciones séricas de proteína C-reactiva (CRP), amiloide sérico A (SAA), y haptoglobina (Hp), de cerdos en Grupos 1 y 2 que mostraron solo lesiones en pulmón agrupados de acuerdo a los porcentajes de la superficie pulmonar afectada.

	<i>n</i>	CRP ( $\mu\text{g/ml}$ )	SAA ( $\mu\text{g/ml}$ )	Hp (mg/ml)
1-30%	25	61.8 <sup>a</sup> (50.0-114.3)	0.0 <sup>a</sup> (0.0-4.7)	1.1 <sup>a</sup> (0.5-1.6)
> 30%	12	90.6 <sup>a</sup> (57.6- 143.8)	9.3 <sup>b</sup> (0.0- 39.1)	2.4 <sup>b</sup> (1.9- 2.6)

Los resultados están expresados como valores medios e intervalos de confianza. Diferentes superíndices dentro de cada columna indican valores con diferencia significativa.

Fuente: Francisco *et al.*, (2007)

Cuadro 31. Concentraciones séricas de proteína C-reactiva (CRP), amiloide sérico A (SAA), y haptoglobina (Hp), de cerdos en Grupos 1 y 2 que mostraron solo lesiones en pulmón agrupados de acuerdo a la presencia de uno o más tipos diferentes de lesiones pulmonares.

	<i>n</i>	CRP ( $\mu\text{g/ml}$ )	SAA ( $\mu\text{g/ml}$ )	Hp (mg/ml)
Un tipo de lesión pulmonar	29	70.8 <sup>a</sup> (55.2-123.6)	0.0 <sup>a</sup> (0.0- 9.8)	1.1 <sup>a</sup> (0.5- 1.7)
Más de un tipo de lesión pulmonar	8	90.6 <sup>a</sup> (49.5-119.7)	0.0 <sup>a</sup> (0.0- 26.1)	2.5 <sup>b</sup> (2.1- 2.8)

Los resultados están expresados como valores medios e intervalos de confianza. Diferentes superíndices dentro de cada columna indican valores con diferencia significativa.

Fuente: Francisco *et al.*, (2007).

De los resultados obtenidos en este estudio, los valores séricos de CRP y Hp podrían ser usados para diferenciar a cerdos sanos sin ningún tipo de lesión de aquellos cerdos con lesiones sub-clínicas. En adición, las concentraciones de Hp podrían ser usadas como un indicador de la extensión y severidad de las lesiones pulmonares de los cerdos en el rastro (86).

### **3.5.8 Bienestar Animal.**

El bienestar animal en los distintos sistemas de producción porcina cada vez toma más importancia en la opinión pública e impacta directamente en los patrones de consumo de la población, por ello también se han estudiado los perfiles de las distintas PFAs como herramienta potencial para la evaluación del bienestar de los cerdos.

Aunque las jaulas de gestación han proveído una reducción en los costos de construcción y mano de obra a los productores; el uso de estas en los sistemas de producción sigue siendo controversial en términos de bienestar animal. Las jaulas de gestación físicamente limitan a las cerdas para pararse, sentarse y acostarse. Varios estudios han sugerido que los comportamientos anormales repetitivos, llamados estereotipias son un indicador de un pobre bienestar, y que pueden ser inducidos por restricciones en el espacio físico del animal. Debido a la estructura natural de jerarquía social de los cerdos, las agresiones ocurren a menudo en grupos de cerdas. En adición a esto el alojamiento en grupos puede resultar en una competencia por recursos. Aunque el alojamiento individual minimiza los conflictos sociales y la competencia; puede llevar a estados de frustración a las cerdas. Por esta razón, las evaluaciones de bienestar en diferentes sistemas de alojamiento son necesarias para las cerdas gestantes (87).

En este estudio Sorrells *et al.*, (2001) evaluó el bienestar de las cerdas comparando las diferencias inmunológicas entre cerdas alojadas individualmente en jaulas y cerdas alojadas en grupos de cuatro. Los parámetros que se incluyeron fueron la Hp y la AGP (87).

Cuarenta y ocho cerdas Landrace x Yorkshire fueron utilizadas. Ocho grupos de cuatro cerdas fueron comparadas con dieciséis cerdas alojadas individualmente. Todas las cerdas fueron alojadas en la misma caseta de gestación para mantener un alto grado de control y reducir los efectos ambientales (87).

Las muestras sanguíneas fueron obtenidas en los días 35, 63 y 91 de gestación. Los valores inmunológicos aquí reportados no incluyen los de las siete cerdas que retornaron al estro. Hematocrito (%), granulocitos y número de linfocitos ( $\times 10^9/L$ ), y concentraciones de fibrinógeno (g/dL) fueron determinadas usando IDEXX, Vetest auto-analizador. Las concentraciones de Hp y AGP ( $\mu/ml$ ) fueron determinadas por inmunodifusión radial usando un Kit (Saikin Kagaku Institute, Sedai, Japan) específico para Hp y AGP porcina (87).

No hubo diferencias significativas en el hematocrito, linfocitos, o en las concentraciones de AGP (Cuadro 32). Niveles normales de AGP sugieren una leve señal de inflamación. Fibrinógeno y granulocitos no tuvieron un efecto por el tratamiento, pero tuvieron un efecto por tiempo en ambos tratamientos de alojamiento ( $P < .0002$ ,  $P < .0003$ ) (87).

Cuadro 32. Parámetros sanguíneos para cerdas alojadas en grupos de cuatro o jaulas individuales.

Variable	Tiempo	Jaulas		Grupos		Nivel de Señal
		n*	Media	n**	Media	
Hematocrito (% PCV)	1	16	40.4	8	41.5	> .10
	2	13	40.3	8	40.9	> .10
	3	14	38.7	8	40.6	> .10
Granulocitos ( $\times 10^9/L$ )	1	16	9.29	8	9.2	> .10
	2	13	8.8	8	8.79	> .10
	3	14	10.7	8	11.3	< .003 Tiempo
Linfocitos ( $\times 10^9/L$ )	1	16	6.08	8	6.16	> .10
	2	13	5.81	8	5.66	> .10
	3	14	5.7	8	5.19	> .10
Fibrinógeno (g/dL)	1	16	467	8	379	> .10
	2	13	406	8	435	> .11
	3	14	460	8	426	> .12
$\alpha_1$ -Glicoproteína ácida ( $\mu g/ml$ )	1	16	467	8	379	> .10
	2	13	406	8	435	> .11
	3	14	460	8	426	> .12
Haptoglobina ( $\mu g/ml$ )	1	16	1433	8	1308	< .06 Tx.
	2	13	1617	8	1297	< .06 Tx.
	3	14	1824	8	1724	< .002 Tiempo

\* valores indican el número de evaluaciones individuales

\*\* valores indican el número de grupos de cuatro evaluados

Fuente: Sorrells *et al.*, (2001)

La evaluación de Hp reveló un efecto por tiempo, con concentraciones de Hp gradualmente incrementado en ambos ambientes sobre tiempo ( $P < .002$ ) (87).

Los datos obtenidos por Sorrells *et al.*, (2001) mostraron una tendencia de concentraciones séricas de Hp más altas en cerdas alojadas en jaulas que las cerdas alojadas en grupos ( $P < .06$ ). Los autores esperaban encontrar niveles más altos de Hp en cerdas alojadas en grupos, debido al mayor número de lesiones en la piel e inflamación, predominantemente debido a la agresión por dominancia. Sus resultados sugieren que las cerdas alojadas en jaulas pueden tener áreas internas de inflamación que no son detectables. Las restricciones del movimiento en las jaulas pueden causar inflamación en las articulaciones, hombros, y piernas, las cuales no son visibles a la inspección y causan las elevadas concentraciones de Hp (87).

Aunque otras mediciones inmunológicas deberán ser investigadas para una mejor evaluación del bienestar en cerdas gestantes, los autores no encontraron evidencia substancial de diferencias inmunológicas en las cerdas alojadas en estos dos particulares sistemas (87).

El uso de jaulas para gestación en la producción porcina permanece como un tema controversial de bienestar animal. La medición del estado inmunológico es frecuentemente usado para evaluar los niveles de estrés en animales criados en confinamiento (88).

El bienestar de las cerdas gestantes fue evaluado por medio de la cuantificación del cortisol, citocinas de fase aguda, y los perfiles de las distintas PFAs antes y después del parto de cerdas alojados en dos distintos sistemas (jaula y corral) (88).

Para este fin Sorrells *et al.*, (2007) utilizaron 32 cerdas cruza Landrace x Yorkshire alojadas en grupos de 4 (grupo, n= 8) en corrales (3.9 x 2.4 m con 4 comederos individuales, 9.36 m<sup>2</sup> totales o 2.34 m<sup>2</sup>/cerda); que se compararon con cerdas alojadas en jaulas de gestación estándar (jaula, n= 16; 2.2 x 0.6 m, 1.32 m<sup>2</sup>/cerda). Los pisos fueron totalmente de slat, y no se proporcionó substrato alguno para ningún sistema (88).

Las muestras sanguíneas fueron obtenidas vía yugular en el día 35, 63, y 91 de gestación, y 72 horas y 14 días después del parto. Se tomaron muestras de saliva para el análisis de cortisol en los días 105 de gestación, 1 hora después de haber movido a las cerdas dentro del área de partos en el día 111, y 24 horas y 7 días después del parto. La expresión de ARNm de IL-1, receptor antagonista de IL-1 y TNF- $\alpha$  fueron determinados por la prueba de PCR de transcripción inversa en los días 35, 63, y 91 de gestación y 72 horas después del parto. Las PFAs incluyendo al fibrinógeno, Hp, y AGP fueron determinadas mediante un kit comercial de inmunodifusión radial (Saikin Kagaku Institute Co. Ltd., Sedai, Japón), en los días 35, 63, y 91 de gestación y 72 horas y 14 días después del parto (88).

Las concentraciones de cortisol decrecieron ( $P = 0.001$ ) con el paso del tiempo (Figura 25). La expresión de ARNm de células mononucleares sanguíneas no

difirió entre los sistemas de alojamiento para IL-1, su receptor antagonista, o para el TNF- $\alpha$ . En contraste a lo que sucede con el cortisol, las concentraciones plasmáticas de fibrinógeno se incrementaron ( $P < 0.005$ ) con el tiempo (Figura 26). Las concentraciones de Hp no difirieron entre tratamientos ( $P > 0.10$ ) (Figura 27). Las cerdas en jaula tendieron a tener concentraciones más altas de AGP ( $P = 0.07$ ) que las cerdas alojadas en grupo a los 35 días de gestación y 14 días después del parto (Figura 28) (88).

Estos datos mostraron una tendencia de la AGP ( $P < 0.07$ ) de retornar a sus niveles basales más rápido en cerdas alojadas en grupo, lo cual no parece ser directamente relacionado con los incrementos de cortisol después del parto (88).

En conclusión, pocas diferencias fueron detectadas entre los sistemas de alojamiento, sugiriendo que la respuesta inmunológica y por ende la de las PFAs es medianamente afectada por las jaulas de gestación (88).

### **3.6 Conclusiones.**

De las distintas investigaciones realizadas se pudo encontrar una relación estadística entre la presencia de neumonía bacteriana y la concentración de algunas PFAs permitiendo concluir que los niveles de PFAs podrían ser usados como indicador para la presencia de infecciones bacterianas en cerdos (10).

Así mismo en enfermedades de etiología viral las PFAs fueron útiles para determinar el momento de infección y el estado de infección en el cual los signos clínicos pueden ser observados, y contribuir al diagnóstico de las mismas (73); o que el incremento de los niveles de PFAs depende del desarrollo de la enfermedad de forma clínica y no sólo de la infección por el agente viral (68).

Las PFAs podrían ser usadas como un indicador objetivo para la evaluación del estado de salud de la pira y de la eficacia de las medidas de control para distintas enfermedades (74). También serían aplicadas para identificar enfermedades sub-clínicas u otros factores estresantes, mientras se aplican tratamientos efectivos y/o estrategias de manejo (79).

La medición combinada de dos o tres de las PFAs, incluyendo aquellas proteínas con cinéticas lentas y rápidas, podrían ser usadas para lograr una alta sensibilidad para la detección de las infecciones (38).

La relación inversa entre ganancia de peso y niveles de PFAs, también sugiere que las PFAs pueden ser usadas como bio-marcadores para la evaluación del estrés y bienestar en cerdos (82). Como lo podemos ver en el hecho de que la respuesta de las PFAs está relacionada con las buenas practicas de transporte



(83) y el manejo de la piara (9). Que se ve en el hecho de que las concentraciones más altas en las PFAs se observaron en cerdas alojadas en jaulas que en cerdas alojadas en grupos (88). También el tipo de piara influyó sobre la concentración de las PFAs, ya que las concentraciones más bajas de PFAs fueron obtenidas de piaras libres de patógenos específicos (35).

Las PFAs también mostraron tener un alto potencial para diferenciar a cerdos sanos sin ningún tipo de lesión de aquellos cerdos con lesiones sub-clínicas así como también para indicar la extensión y severidad de las lesiones pulmonares de los cerdos en el rastro (86).

Por lo tanto son necesarias más investigaciones para definir la utilidad de las PFAs como potenciales marcadores del bienestar animal y su aplicación en el diagnóstico y prevención de enfermedades, así como también en el diseño de programas de control e incluso para identificar riesgos potenciales de salud pública en la inspección de la canal en rastros.

Por otra parte se espera que en el futuro, con el desarrollo de nuevas tecnologías más sensibles, sencillas y económicas; y con un mayor conocimiento de la cinética de las distintas PFAs, ante distintos procesos patológicos y condiciones de manejo, puedan ser utilizadas como instrumento de monitorización de la calidad higiénico sanitaria de todos los elementos que intervienen en la producción del ganado porcino.

#### 4. REFERENCIAS

1. Amory JR, Mackenzie AM, Eckersall PD, Stear MJ, Pearce GP. Influence of rearing conditions and respiratory disease on haptoglobin levels in the pig at slaughter. *Res. Vet. Sci.* 2007; doi:10.1016/j.physletb.2003.10.071.
2. Gymnich S, Knura-Deszczka S, Petersen B. Implementation of the acute phase protein haptoglobin in encompassing preventive health programs in pig production. *Proceedings of the International Society for Animal Health; 2004 October 11-13; Saint Malo, France, 2004: 121-122.*
3. Piñeiro NC. Estudio de las proteínas de fase aguda en el cerdo y su relación con los rendimientos productivos. XVIII Curso de especialización FEDNA; 2002 Noviembre 4-5; Barcelona España. Fundación Española para el Desarrollo de la Nutrición Animal, 2002: 163-184.
4. Tecles F, Fuentes P, Martínez Subiela S, Parra MD, Muñoz A, Cerón JJ. Analytical validation of commercially available methods for acute phase proteins quantification in pigs. *Res. Vet. Sci.* 2007; 83: 133-139.
5. Piñeiro C, Piñeiro M, Morales J, Andrés M, Lorenzo E, Pozo M, Alava MA, Lampreave F. Pig-MAP and Haptoglobin concentration reference values in swine from commercial farms. *Vet. J.* 2007; 179: 78-84.
6. Gordon Skinner J. International Standardization of acute phase proteins. *Vet. Clin. Pathol.* 2001; 30 (1): 2-7.
7. Eckersall PD, Saini PK, McComb C. The acute phase response of acid soluble glycoprotein,  $\alpha$ 1-acid glycoprotein, ceruloplasmin, haptoglobin and

- C-reactive protein, in the pig. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 1996; 51: 377-385.
8. Piñeiro M, Alava MA, Lampreave F. Acute phase proteins in different species: a review. *Proceedings from the 4th European Colloquium on Acute Phase Proteins*; 2003 September 25–26; Segovia, Spain, 2003: 77-82.
  9. Salamano G, Mellia E, Candiani D, Ingravalle F, Bruno R, Ru G, Doglione L. Changes in haptoglobin, C-reactive protein and pig-MAP during a housing period following long distance transport in swine. *Vet. J.* 2007; 177: 110-115.
  10. Pallarés FJ, Gómez S, Seva J, Cerón JJ, Ramis G, Parra MD, Martínez-Subiela S, Bernabé A, Gómez MA, Muñoz A. Relationship between acute phase protein concentrations and lung lesions in field cases of PRDC. *Proceedings of the 19th IPVS Congress*; 2006 Jul 16-19; Copenhagen, Denmark, 2006: 300.
  11. Eckersall PD (b). Acute phase proteins as Biomarkers of disease in Production Animals. *Proceedings of the Annual meeting of the American College of Veterinary Pathologists and American Society for Veterinary Clinical Pathology*, December 2-6; Tucson, Arizona, USA, 2006.
  12. Benigni F, Fatuzzi G, Sacco S, Sironi M, Pozzi P, Dinarello CA, Sipe JD, Poli V, Cappelletti M, Paonessa G, Pennica D, Panayotatos N, Ghezzi P. Six different cytokines that share GP130 as a receptor subunit, induce serum amyloid A and potentiate the induction of interleukin-6 and the activation of the hypothalamus-pituitary-adrenal axis by interleukin-1. *Blood J.* 1996; 87 (5): 1851-1854.

13. Asai T, Mori M, Okada M, Uruno K, Yazawa S, Shibata I. Elevated serum haptoglobin in pigs infected with porcine reproductive and respiratory syndrome virus. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 1999; 70:143-148.
14. Carroll JA, Fangman TJ, Hambach AK, Wiedmeyer CE. The acute phase response in pigs experimentally infected with *Escherichia coli* and treated with systemic bactericidal antibiotics. *Livest. Prod. Sci.* 2004; 85: 35-44.
15. Niewold TA, Toussaint MJM, Gruys E. Monitoring health by acute phase proteins. *Proceedings from the 4th European Colloquium on Acute Phase Protein*; 2003 September 25–26; Segovia, Spain, 2003: 57-67.
16. Carpintero R, Piñeiro M, Andrés M, Iturralde M, Alava MA, Heegaard PMH, Jobert JL, Madec F, Lampreave F. The concentration of apolipoprotein A-I decreases during experimentally induced acute phase processes in pigs. *Infect. Immun.* 2005; 73 (5): 3184-3187.
17. Gruys E, Toussaint MJM, Upragarin N, Van Ederen AM, Adewuyi AA, Candiani D, Nguyen TKA, Sabeckiene (Balciute) J. Acute phase reactants, challenge in the near future animal production and veterinary medicine. *J. Zhejiang Univ. Sci.* 2005; 6B (10): 941-947.
18. Eckersall PD. Recent advances and future prospects for the use of acute phase proteins as markers of disease in animals. *Revue. Méd. Vét.* 2000; 151:577-584.
19. Clapperton M, Bishop SC, Piñeiro M, Campbell FM, Glass EJ. The association between plasma levels of acute phase proteins, haptoglobin, alpha-1 acid glycoprotein (AGP), pig- MAP, transthyretin and serum amyloid

- A (SAA) in large white and meishan pigs. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 2007; 119: 303-307.
20. Chen H, Lin JH, Fung HP, Ho LL, Yang PC, Lee WC, Lee YP, Chu RM. Serum acute phase proteins and swine health status. *Can. J. Vet. Res.* 2003; 67: 283-290.
21. Klaus W, Schellander K, Ponsuksili S. BF, HP, DQB and DRB are associated with hemolytic complement activity, acute phase protein reaction and antibody response in the pig. *Vet. Immunol. and Immunopathol.* 2003; 99: 215-228.
22. Johnson RW. Inhibition of growth by pro-inflammatory cytokines: an integrated view. *J. Anim. Sci.* 1997; 75: 1244-1255.
23. Petersen HH, Nielsen JP, Heegaard PH. Application of acute phase protein measurements in veterinary clinical chemistry. *Vet. Res.* 2004; 35:163-187.
24. Murata H, Shimada N, Yoshioka M. Current Research on acute phase proteins in veterinary diagnosis: an overview. *The Vet. J.* 2004; 168: 28-40.
25. Hari-Dass R, Shah C, Meyer DJ, Raynes JG. Serum amyloid A protein binds to outer membrane protein A of gram negative bacteria. *J. Bio. Chem.* 2005; 280: 18562-18567.
26. Mackiewicz A, Kushner I, Baumann H. Acute Phase Proteins. *Molecular Biology, Biochemistry, and Clinical applications.* Unites States of America: CRC Press, 1993.
27. Gonzalez-Ramón N, Hoebe K, Alava MA, Van Leengoed L, Piñeiro M, Carmona S, Iturralde M, Lampreave F, Piñeiro A. Pig MAP/ITIH4 and haptoglobin are interleukin-6-dependent acute phase plasma proteins in

- porcine primary cultured hepatocytes. *Eur. J. Biochem.* 2000; 267: 1878-1885.
28. Geisert RD, Ashworth MD, Malayer JR. Expression of inter- $\alpha$ -trypsin inhibitor heavy chains in endometrium of cyclic and pregnant gilts. *Reproduction* 2003; 126: 621-627.
29. Piñeiro M, Andrés M, Iturralde M, Carmona S, Hirvonen J, Pyörälä S, Heegaard PMH, Tjørnehoj K, Lampreave F, Piñeiro A, Alava MA. ITIH4 (Inter-Alpha-Trypsin Inhibitor Heavy Chain 4) is a new acute phase protein isolated from cattle during experimental infection. *Infect. and Immun.* 2004; 72: 3777-3782.
30. Heinrich C, Castell V, Andus T. Interleukin-6 and the acute phase response. *Biochem. J.* 1990; 265: 621-636.
31. Muñoz LA. *Producir Carne de Cerdo en el siglo XXI, generando un Nuevo Orden Zootécnico.* España: Acalanthis, 2006.
32. Petersen HH, Dideriksen D, Christiansen BM, Nielsen JP. Serum haptoglobin concentration as a marker of clinical signs in finishing pigs. *Vet. Rec.* 2002; 151: 85-89.
33. Moscati L, Sensi M, Pela M, Battistacci L. Acute phase proteins and non specific immunity parameters. *Proceedings of the 19th IPVS Congress, Copenhagen, Denmark, 2006; 1: 283.*
34. Hirvonen J. *Acute phase response in dairy cattle.* Faculty of Veterinary Medicine, University of Helsinki. Helsinki: ed. Pyörälä, Satu, 1999.

35. Petersen HH, Ersboll AS, Jensen CS, Nielsen JP. Serum haptoglobin concentration in Danish slaughter pigs of different health status. *Pre. Vet. Med.* 2002; 54: 325-335.
36. Webel DM, Finck BN, Baker DH, Johnson W. Time course of increased plasma cytokines, cortisol, and urea nitrogen in pigs following intraperitoneal injection of lipopolysaccharide. *J. Anim. Sci.* 1997; 75: 1514-1520.
37. Changhua L, Jindong Y, Defa L, Lidan Z, Shiyan Q, Jianjun X. Conjugated linoleic acid attenuates the production and gene expression of proinflammatory cytokines in weaned pigs challenged with lipopolysaccharide. *J. Nutr.* 2005; 135: 239-244.
38. Sorensen NS, Tegtmeier C, Andresen LO, Piñeiro M, Toussaint MJM, Campbell FM, Lampreave F, Heegaard PMH. The porcine acute phase protein response to acute clinical and subclinical experimental infection with *Streptococcus suis*. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 2006; 157-168.
39. Webel DM, Mahan DC, Johnson RW, Baker DH. Pretreatment of young pigs with vitamin E attenuates the elevation in plasma interleukin-6 and cortisol caused by a challenge dose of lipopolysaccharide. *J. Nutr.* 1998; 128: 1657-1660.
40. Hicks T, McGlone J, Whisnant C, Kattesh H, Norman R. Behavioral, endocrine, immune, and performance measures for pigs exposed to acute stress. *J. Anim. Sci.* 1998; 76: 474-483.
41. Murata, H. Stress and acute phase protein response: an inconspicuous but essential linkage. *Vet. J.* 2006; 173: 473-474.

42. Frank JW, Carrol JA, Allee GL, Zannelli ME. The effects of thermal environment and spray-dried plasma on the acute-phase response of pigs challenged with lipopolysaccharide. *J. Anim. Sci.* 2003; 81: 1166-1176.
43. Escobar J, Van Alstine W, Baker D, Johnson R. Decreased protein accretion in pigs with viral and bacterial pneumonia is associated with increased myostatin expression in muscle. *J. Nutr.* 2004; 134: 3047-3053.
44. Gruys E, Toussaint M.J.M, Niewold TA, Koopmans S.J, Acute phase reaction and acute phase proteins. *J. Zhejiang Univ. Sci.* 2005; 6B (11): 1045-1056.
45. Herbert T, Vannier E, Vachino G, Dinarello C, Mier J. Antiinflammatory properties of hepatic acute phase proteins: Preferential induction of interleukin 1 (IL-1) receptor antagonist over IL-1 $\beta$  synthesis by human peripheral blood mononuclear cells. *J. Exp. Med.* 1993; 178: 1629-1636.
46. Eckersall P. Acute phase proteins as markers of inflammatory lesions. *Comp. Haematol. Int.* 1995; 5: 93-97.
47. *Inmunologiaenlinea.es* [homepage on the internet]. Córdoba: Facultad de Medicina, Universidad de Córdoba; 26 enero de 2009 [updated 2009 Jul. 16; cited 2009 Oct. 05] Available from: <http://www.inmunologiaenlinea.es/>
48. Hogarth MB, Gallimore JR, Savage P, Palmer AJ, Starr JM, Bulpitt CJ, Pepys MB. Acute phase proteins, C-reactive protein and serum amyloid A protein, as prognostic markers in the elderly inpatient. *Age and Ageing* 1997; 26: 153-158.



49. Wilkins J, Gallimore JR, Tennent GA, Hawkins PN, Limburg PC, Van Rijswijk MH, Moore EG, Pepys MB. Rapid automated enzyme immunoassay of serum amyloid A. *Clin. Chem.* 1994; 40: 1284-1290.
50. Hiss S, Sauerwein H. Influence of dietary  $\beta$ -glucan on growth performance, lymphocyte proliferation, specific immune response and haptoglobin plasma concentrations in pigs. *J. Anim. Physiol. Anim. Nutr.* 2003; 87: 2-11.
51. Jensen LE, Whitehead AS. Regulation of serum amyloid A protein expression during the acute-phase response. *Biochem. J.* 1998; 334: 489-503.
52. Baskin LC, Pomp D, Geisert RD. Rapid communication: the porcine Inter-alpha trypsin inhibitor-heavy chain 4 (ITIH4) gene maps to chromosome 13. *J. Anim. Sci.* 1998; 76:1501-1502.
53. PigCHAMP Pro Europa [home page on the internet] Segovia: PigCHAMP Pro c2000-2009, Pig-MAP Proteína de Fase Aguda Principal en el cerdo. Available from: [http://www.pigchamp-pro.com/files/PigCHAMP\\_PigMAP.pdf](http://www.pigchamp-pro.com/files/PigCHAMP_PigMAP.pdf)
54. García GA, Hernández S, Mejía OR, Báez SA, García AC. Biología y patobiología humana del ácido hialurónico en la estabilización de la matriz extracelular y la inflamación. *Rev. Med.* 2006; 14: 80-87.
55. Hettinger AM, Allen MR, Zhang BR, Goad DW, Malayer JR, Geisert RD. Presence of acute phase protein, bikunin, in the endometrium of gilts during estrous cycle and early pregnancy. *Biol. of Reprod.* 2001; 65: 507-513.

56. Whicher T, Bienvenu J, Price CP. Molecular biology, measurement and clinical utility of the acute phase proteins. *Pure and Appl. Chem.* 1991; 63: 1111-1116.
57. Touchette K, Carroll J, Alle L, Matteri R, Dyer C, Beausang L, Zannelli M. Effect of spray-dried plasma and lipopolysaccharide exposure on weaned pigs: I. Effects on the immune axis of weaned pigs. *J. Anim. Sci.* 2002; 80:494-501.
58. Toussaint M, Hogarth CJ, Nguyen TKA, Gruys E. Acute phase variables to assess health in various species. *Proceedings of the International Society for Animal Hygiene.* October 11-13, Saint-Malo, France, 2004; 119-120.
59. Parra MD, Väisänen V, Cerón JJ. Development of a time-resolved fluorometry based immunoassay for the determination of canine haptoglobin in various body fluids. *Vet. Res.* 2004; 36: 117-129.
60. Bürger W, Ewald C, Fennert EM. Increase in C-reactive protein in the serum of piglets (pCRP) following ACTH or corticosteroid administration. *Zentralbl Veterinarmed B.* 1998; 45(1):1-6.
61. Heegaard PMH, Klausen J, Nielsen JP, Gonzalez-Ramón N, Piñeiro M, Lampreave F, Alava MA. The porcine acute phase response to infection with *Actinobacillus pleuropneumoniae*, Haptoglobin, C-Reactive, Major Acute Phase Protein and Serum Amyloid A Protein are sensitive indicators of infection. *Comp. Biochem. Physiol.* 1998; 119B: 365-373.
62. Eckersall PD, Duthie S, Safi S, Monffat D, Horadagoda NU, Doyle S, Parton R, Bennett D, Fitzpatrick JL. An automated biochemical assay for

- haptoglobin: prevention of interference from albumin. *Comp. Haematol. Int.* 1999; 9: 117-124.
63. Eurell TE, Hall WF, Bane DP. Purification of swine haptoglobin by affinity chromatography. *Can. J. Vet. Res.* 1990; 54: 501-503.
64. Petersen HH, Nielsen JP, Jensen AL, Heegaard PM, Evaluation of an enzyme-linked immunosorbent assay for determination of porcine haptoglobina. *J. Vet. Med. A. Physiol. Pathol. Clin. Med.* 2001; 48: 513-523.
65. Wiedmeyer CE, Solter PF, Francisco CJ, Hall WF, Hoffmann WE. Cross-reactivity of an automated human haptoglobin immunoturbidimetric assay for detection of haptoglobin in swine serum. *J. Vet. Diagn. Invest.* 1999; 11: 295–297.
66. Lampreave F, González-Ramón N, Martínez-Ayensa S, Hernández MA, Lorenzo HK, García-Gil A, Piñeiro A. Characterization of the acute phase serum protein response in pigs. *Electrophoresis* 1994; 15: 672-6.
67. Hulten C, Johanson E, Fossum C, Wallgren P. Interleukin 6, serum amyloid A and haptoglobina as markers of treatment efficacy in pigs experimentally infected with *Actinobacillus pleuropneumoniae*. *Vet. Micro.* 2003; 95:75-89.
68. Segales J, Piñeiro C, Lampreave F, Nofrarías M, Mateu E, Calsamiglia M, Andrés M, Morales J, Piñeiro M, Domingo M. Haptoglobin and pig-major acute protein are increased in pigs with postweaning multisystemic wasting syndrome. *Vet. Res.* 2004; 35: 275-282.
69. Ithoh H, Tamura K, Izumi M, Motoi Y, Kidoguchi K, Funayama Y. The influence of age and health status on the serum alpha 1-acid glycoprotein

- level of conventional and specific pathogen-free pigs. *Can. J. Vet. Res.* 1993; 57 (2), 74-78.
70. Roth JA, Thacker EL. 2. Immune System. In: Straw BE, Zimmerman JJ, D'Allaire S, Taylor DJ., editors. *Diseases of Swine*. 9<sup>th</sup> edition. Iowa; Blackwell Publishing, 2006 2: 15-35.
71. Escobar J, Van Alstine WG, Baker DH, Johnson RW. Growth performance and whole-body composition of pigs experimentally infected with *Mycoplasma hyopneumoniae*. *J. Anim. Sci.* 2002; 80: 384-391.
72. Franek SP, Bilkei G. Influence of non-confinement rearing under high infectious pressure from *Mycoplasma hyopneumoniae*: Pig performance, acute phase proteins and cortisol assessment. *Acta. Vet. Brno.* 2004; 73:335-340.
73. Pappaterra GJ, Marca J, Piñeiro C, Badia J, Rodríguez-Arrijo GM. Major acute-phase protein of pigs (PigMAP): contribution to the diagnosis of porcine respiratory disease complex (PRDC). *Proceedings of the 19th IPVS Congress, Copenhagen, June 22-26, Denmark, 2006; 2: 299.*
74. Lannou J, Bernard F, Amenna N, Morvan H, Auvigne V. Serum-Haptoglobine concentration in herds chronically affected by PMWS. *Proceedings from the 4th International Symposium on Emerging and Re-emerging Pig Diseases – Rome June 29<sup>th</sup> – July 2<sup>nd</sup>, 2003; 213-214.*
75. Balaji R, Wright, KJ, Hill CM, Dritz SS, Knoppel EL, Minton JE. Acute phase responses of pigs challenged orally with *Salmonella typhimurium*. *J. Anim. Sci.* 2000; 78:1885-1891.

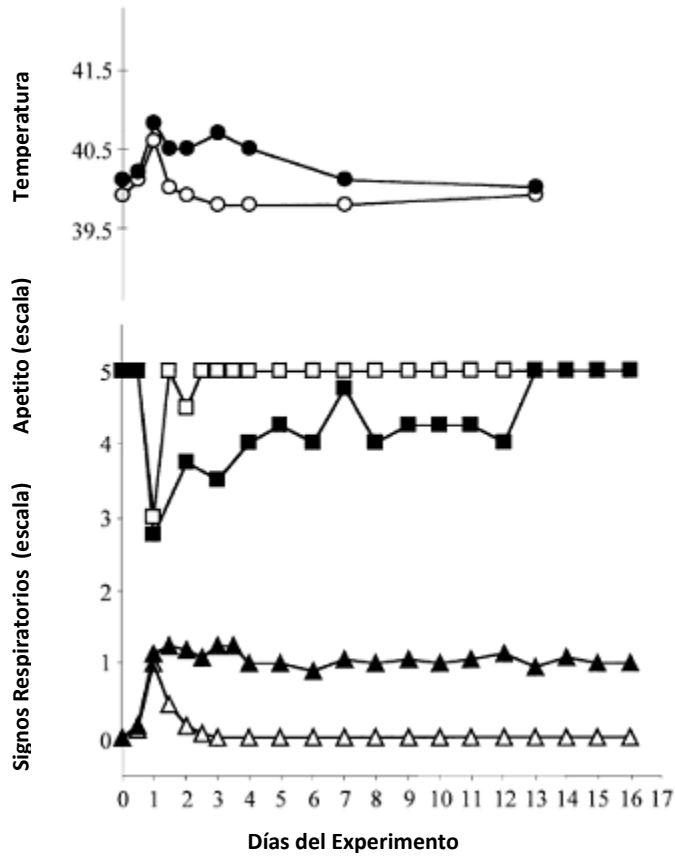
76. Burkey TE, Dritz SS, Nietfeld JC, Johnson BJ, Minton JE. Effect of dietary mannanoligosaccharide and sodium chlorate on the growth performance, acute-phase response, and bacterial shedding of weaned pigs challenged with *Salmonella* enteric serotype *typhimurium*. *J. Anim. Sci.* 2004; 82:397-404.
77. Higgins R, Gottschalk M. Streptococcal Disease. In: Straw BE, Zimmerman JJ, D'Allaire S, Taylor DJ., editors. *Diseases of Swine*. 9<sup>th</sup> edition. Iowa; Blackwell Publishing, 2006 2: 563-578.
78. Francisco CJ, Bane DP, Weigel RM, Unverzagt L. The influence of pen density, weaning age, and feeder space on serum haptoglobina concentration in young growing swine. *Swine Health Prod.* 1996; 4: 67-71.
79. Eurell TE, Bane DP, Hall WF, Schaeffer DJ. Serum Haptoglobin concentration as an indicator of weight gain in pigs. *Can. J. Vet. Res.* 1992; 56: 6-9.
80. Dritz SS, Owen KQ, Goodband RD, Nelssen JL, Tokach MD, Chengappa, Blecha F. Influence of Lipopolysaccharide Induced Immune Challenge and Acute-Phase Protein Production Swine in Segregated Early-Weaned Pigs. *Proceedings of the Swine Day; 1995 November; Kansas USA. Kansas State University 1995: 18-22.*
81. Frank JW, Mellencamp MA, Carroll JA, Boyd RD, Alle GL. Acute feed intake and acute-phase protein responses following a Lipopolysaccharide challenge in pigs from two dam lines. *Vet. Immunol. and Immunopathol.* 2005; 107: 179–187.

82. Piñeiro C, Piñeiro M, Morales J, Carpintero R, Campbell FM, Eckersall PD, Toussaint MJM, Alava MA, Lampreave F. Pig acute-phase protein levels after stress induced by changes in the pattern of food administration. *Animal* 2006; 1: 133–139.
83. Piñeiro M, Piñeiro C, Carpintero R, Morales J, Campbell FM, Eckersall PD, Toussaint MJM, Lampreave F. Characterization of the pig acute phase protein response to road transport. *Vet J.* 2006 May; 173(3):669-674.
84. Heinonen MH, Orro T, Kokkonen T, Munsterhjelm C, Valros A, Peltoniemi OAT. The effect of tail biting on acute phase protein concentrations in finishing pigs. *Proceedings of the 19th IPVS Congress, Copenhagen, Denmark, 2006; 2: 608.*
85. Clapperton M, Bishop SC, Piñeiro M, Campbell FM, Glass EJ. The association between plasma levels of acute phase proteins, haptoglobin, alpha-acid glycoprotein (AGP), Pig-MAP, transthyretin and serum amyloid A (SAA) in Large White and Meishan pigs. *Vet. Immunol. and Immunopathol.* 2006; 119: 303–309.
86. Francisco JP, Martínez-Subiela S, Seva J, Ramis G, Fuentes P, Bernabé A, Muñoz A, Cerón JJ. Relationships between serum acute phase protein concentrations and lesions in finishing pigs. *The Vet. J.,* 2007; 177: 369-373.
87. Sorrells AD, Eicher SD, Harris MJ, Pajor EA, Richert BT. Evaluating housing stress in gestating gilts using immunological measures. *Purdue University, Swine Research Report, 2001; 112-114.*

88. Sorrells AD, Eicher SD, Harris MJ, Pajor EA and Richert BT. Periparturient cortisol, acute phase cytokine, and acute phase protein profiles of gilts housed in groups or stalls during gestation. *J. Anim. Sci.* 2007; 85: 1750-1757.

## 5. Figuras

Figura 1. Resultados de los valores promedio de los signos clínicos: temperatura rectal (círculos), apetito (cuadrados) y signos respiratorios (triángulos), de cerdos infectados con *A. pleuropneumoniae* y tratados con enrofloxacin (símbolos blancos) o dejados sin tratamiento (símbolos negros).

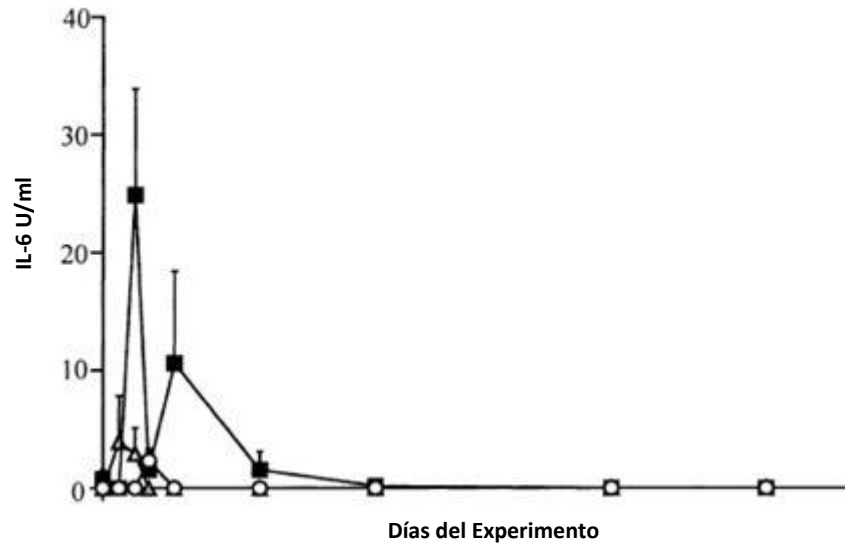


Fuente: Modificado de Hulten et al. (2003)

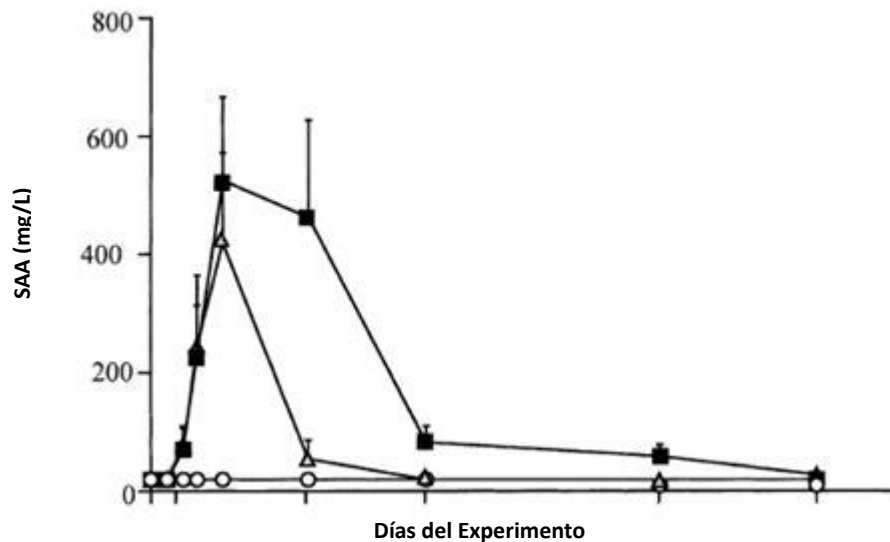
Los cerdos fueron infectados al día 0 y los cerdos tratados fueron inyectados con enrofloxacin (2.5 mg/kg peso vivo) una vez al día por 3 días empezando a las 20 horas post-infección. Los signos respiratorios fueron calificados de 0 (sin signos) a 3 (signos severos). El apetito fue calificado de cinco (todo consumido) a cero (rechazo).



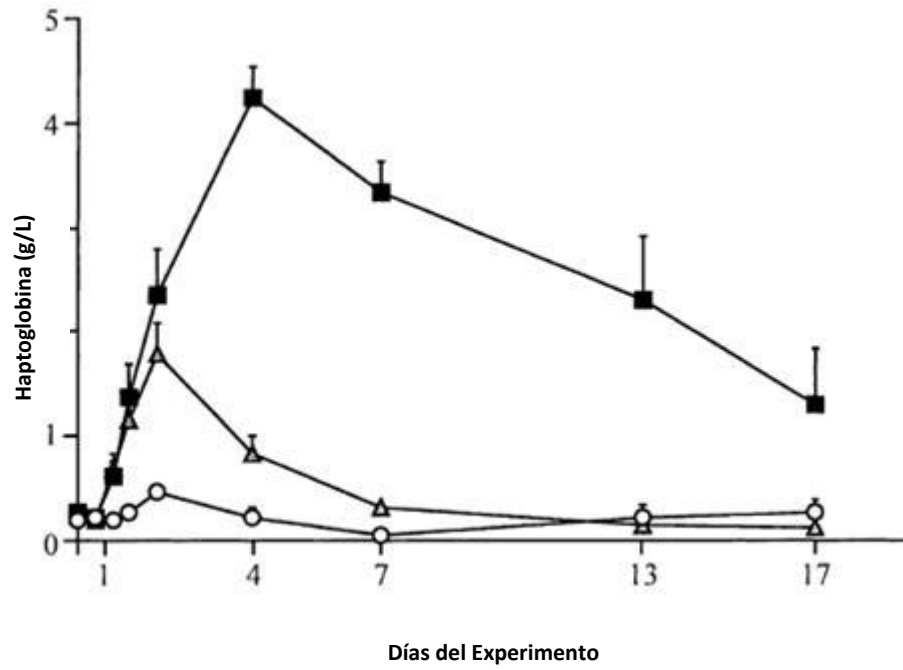
Figura 2. Niveles de IL-6 (a), SAA (b) y Hp (c) en sueros obtenidos de cerdos. Los cerdos fueron infectados el día 0 con *A. pleuropneumoniae* y tratados con enrofloxacin (triangulos sombreados) o dejados sin tratamiento (cuadros negros). Los cerdos control (circulos blancos) no estuvieron ni infectados ni tratados. Los cerdos tratados fueron inyectados con enrofloxacin (2.5 mg/kg de peso vivo) una vez al día por tres días empezando a las 20 horas post-infección.



Fuente: Modificado de Hulten *et al.*, (2003) (a)

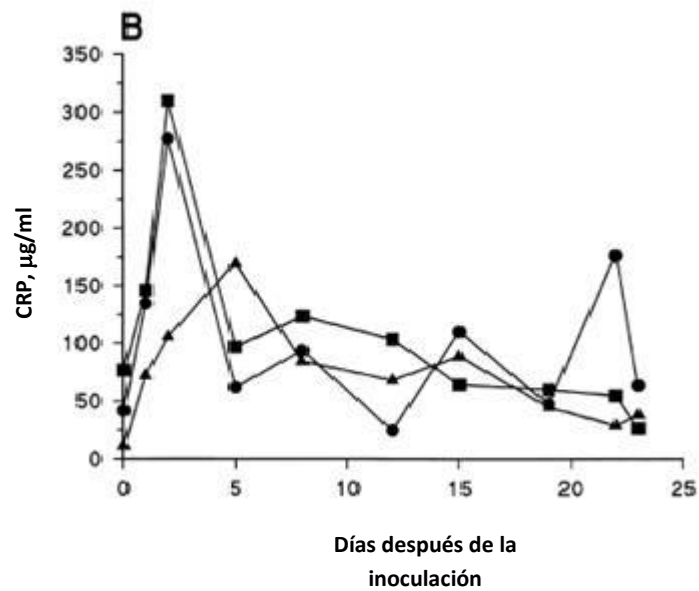
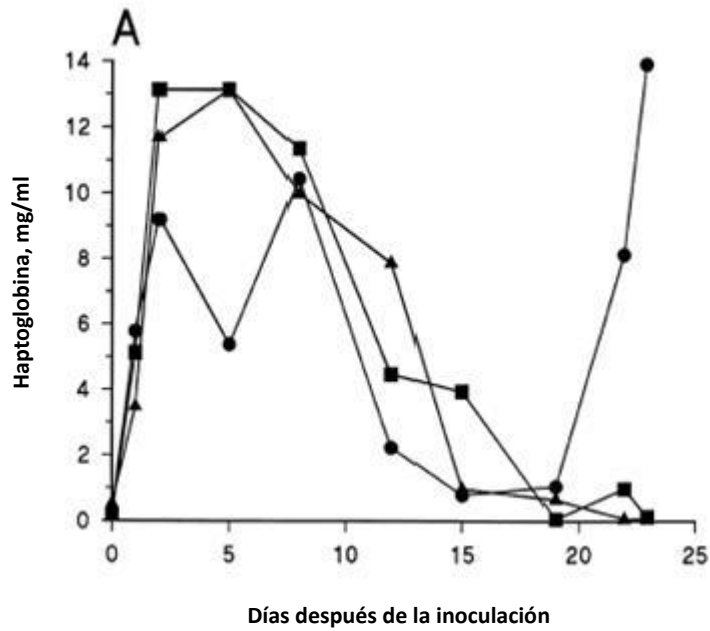


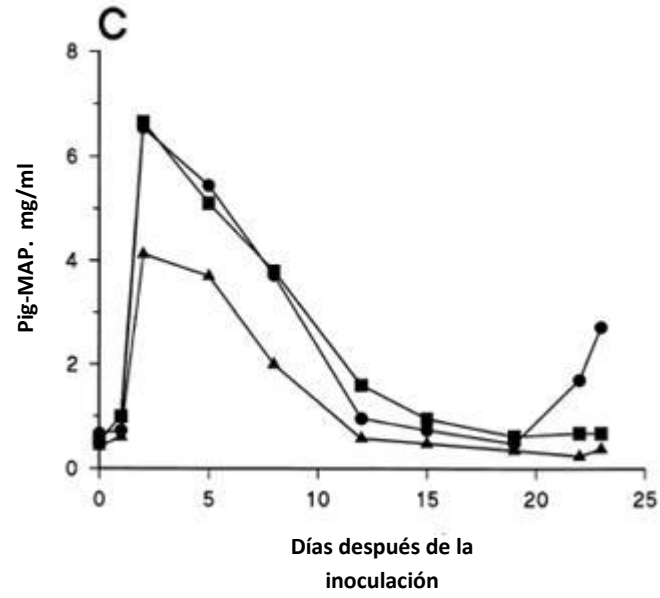
Fuente: Modificado de Hulten *et al.* (2003) (b)



Fuente: Modificado de Hulten *et al.* (2003) (c)

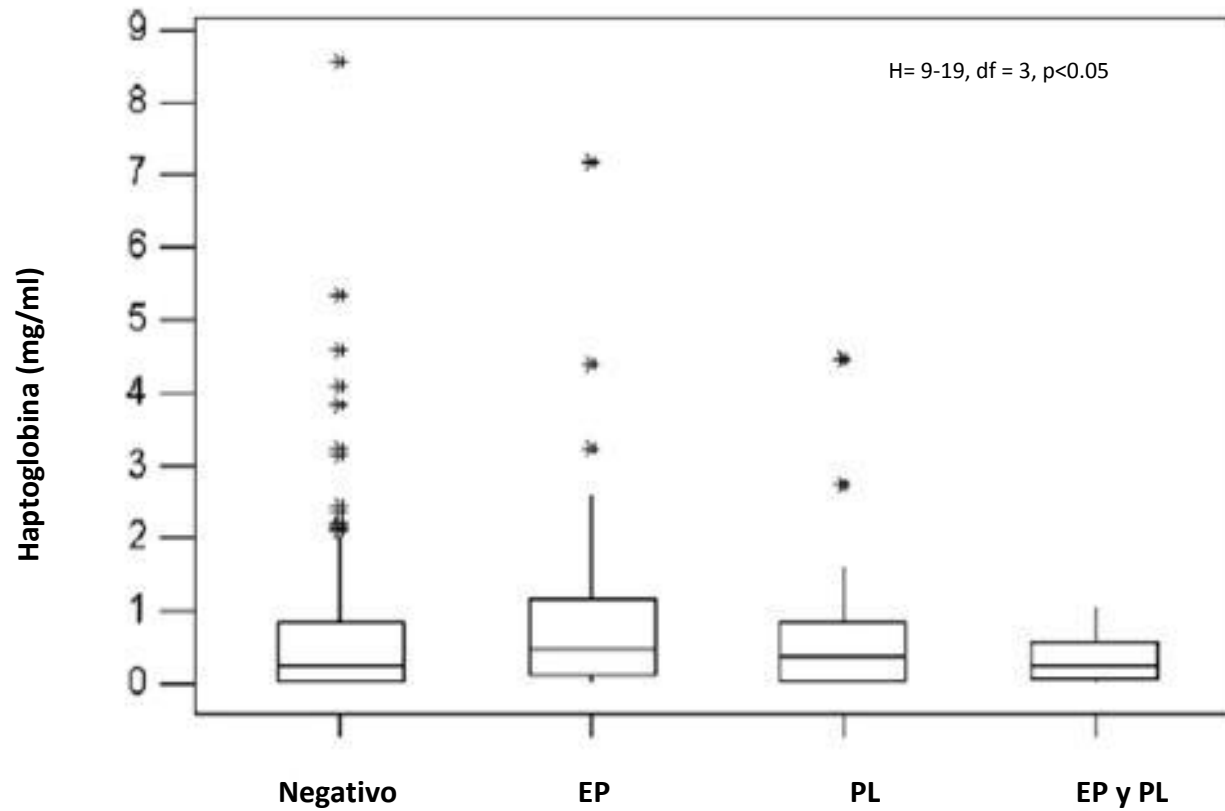
Figura 3. Niveles séricos de haptoglobina (A), proteína C reactiva (B) y Pig-MAP (C) después de un desafío con *Actinobacillus pleuropneumoniae* (Ap) en tres cerdos. El desafío fue en el día 20 con las siguientes dosis: ●: cerdo 1;  $10^9$  UFC/ml sc., 2 x 2 ml; ■: cerdo 2;  $10^6$  UFC /ml sc., 2 x 2 ml; ▲: cerdo 3; solución salina esteril, 2 x 2 ml.





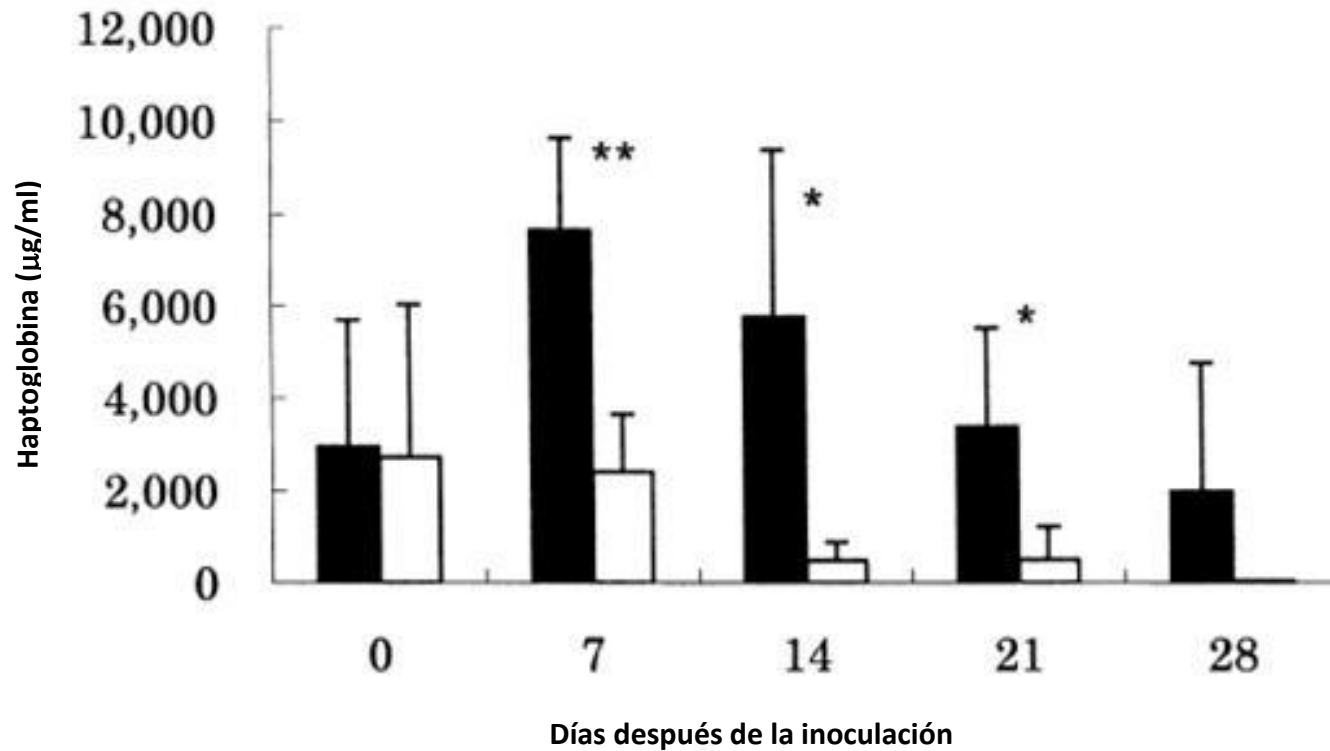
Fuente: Modificado de Heegaard *et al.* (1998)

Figura 4. Concentraciones séricas de haptoglobina (Hp) de cerdos con o sin neumonía enzoótica (EP) y pleuroneumonía enzoótica (PL).



Fuente: Modificado de Amory *et al.*, (2007)

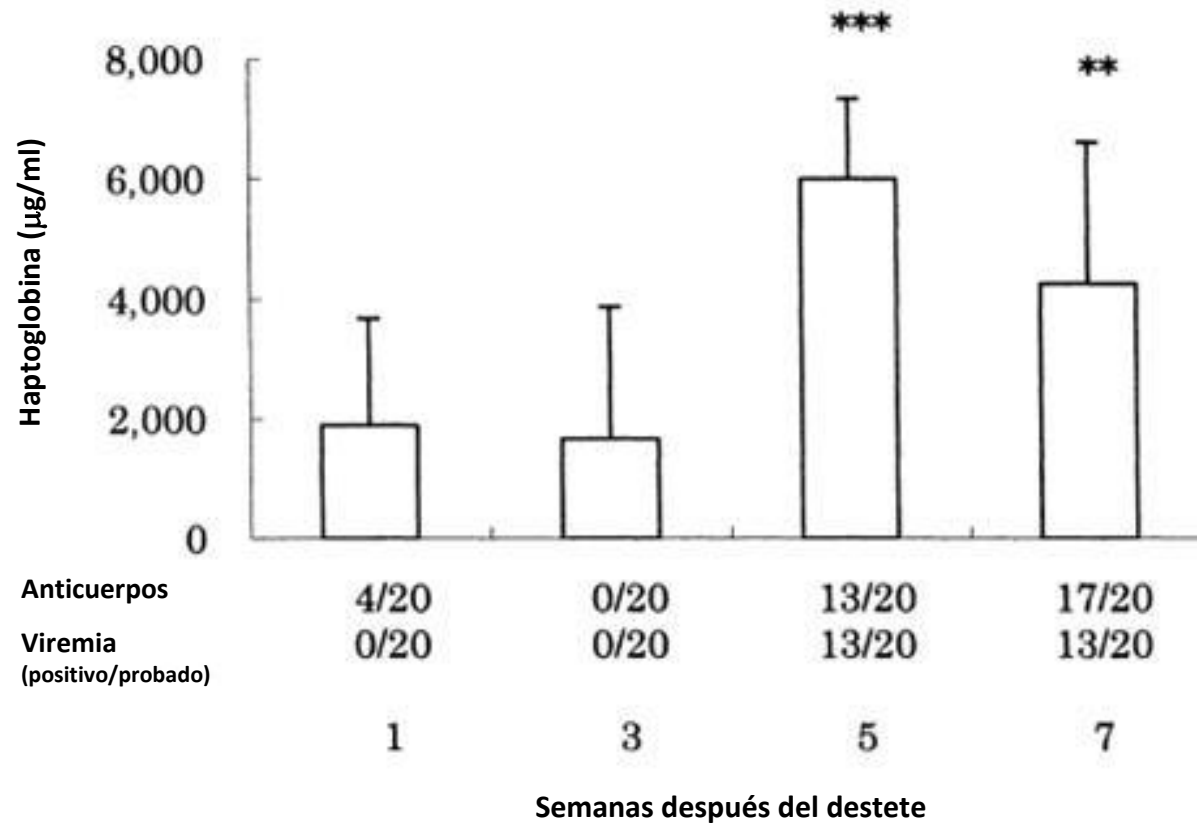
Figura 5. Niveles séricos de haptoglobina (Hp) de cerdos infectados experimentalmente con el virus del PRRS.



Los valores representan las medias  $\pm$  una desviación estandar de haptoglobina serica de cerdos infectados ( $\blacksquare$  n=7) y cerdos control ( $\square$  n=3). Los asteriscos indican los niveles mas altos estadisticamente, comparados con los cerdos controles. (\*\*, P < 0.01, \*, P < 0.05).

Fuente: Modificado de Asai *et al.*, (1999)

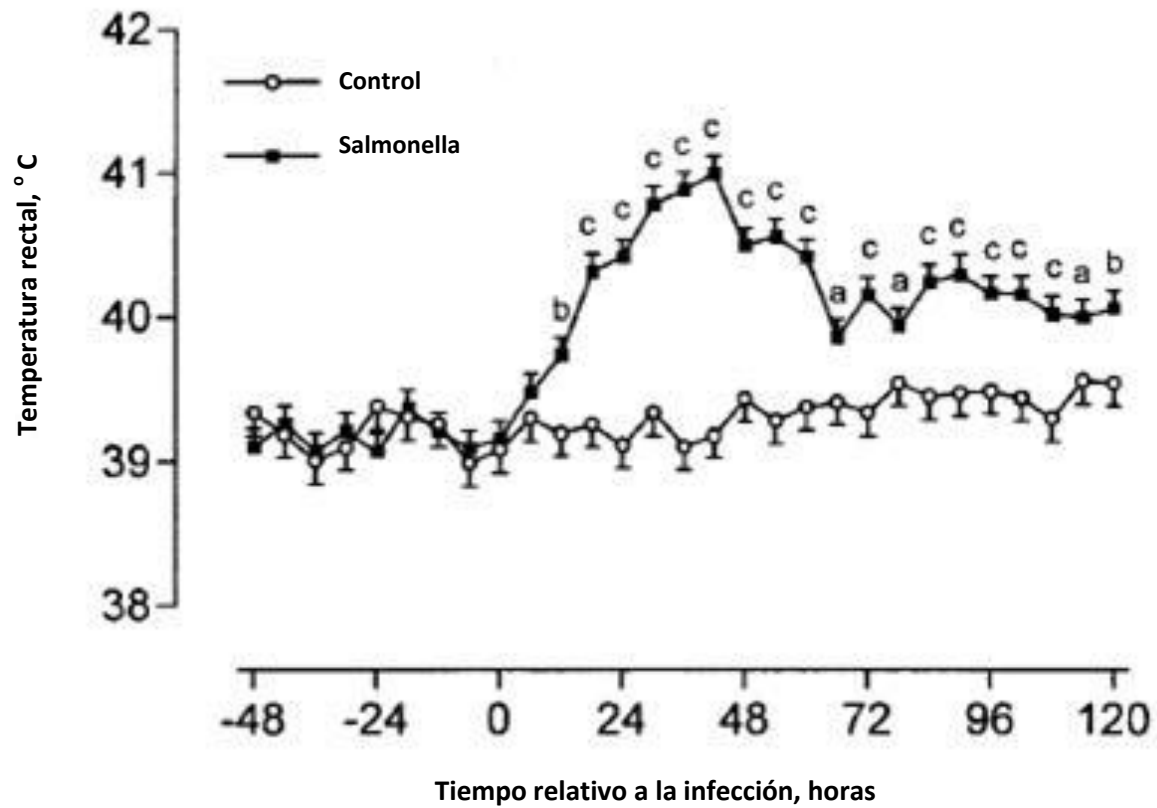
Figura 6. Relación entre los niveles séricos de haptoglobina, con la viremia y anticuerpos de cerdos provenientes de una piara infectada con el virus del PRRS.



Los valores representan la media  $\pm$  una desviación estandar. Los asteriscos indican los niveles más altos estadísticamente, comparados con los niveles en la semana 1 y 3 después del destete. (\*\*,  $P < 0.001$ , \*,  $P < 0.01$ ).

Fuente: Modificado de Asai *et al.*, (1999)

Figura 7. Temperatura rectal de cerdos inoculados por vía oral con  $3 \times 10^9$  UFC de *S. typhimurium* o con medio de cultivo estéril (control).

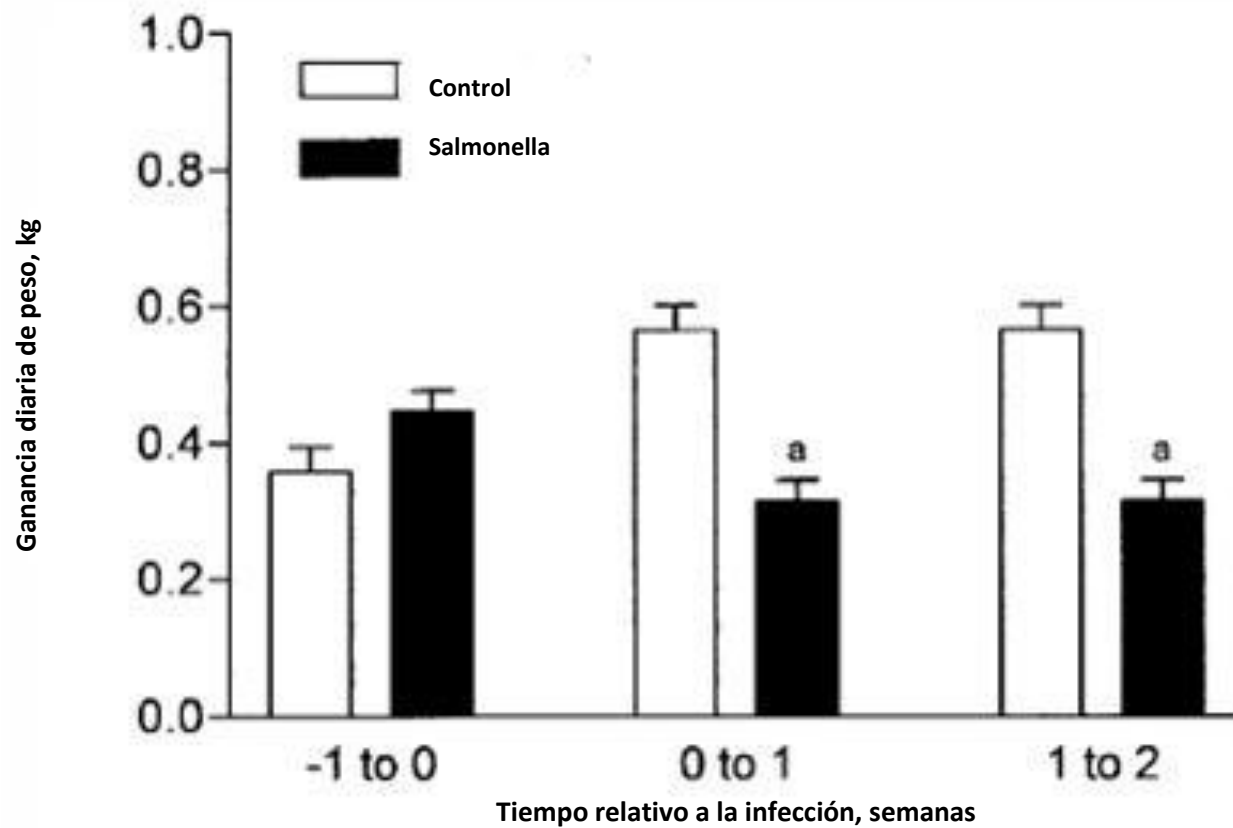


Los superíndices denotan las diferencias entre los tratamientos (<sup>a</sup> P<.05; <sup>b</sup> P<.01; <sup>c</sup> P<.001).

Fuente: Modificado de Balaji *et al.*, (2000)



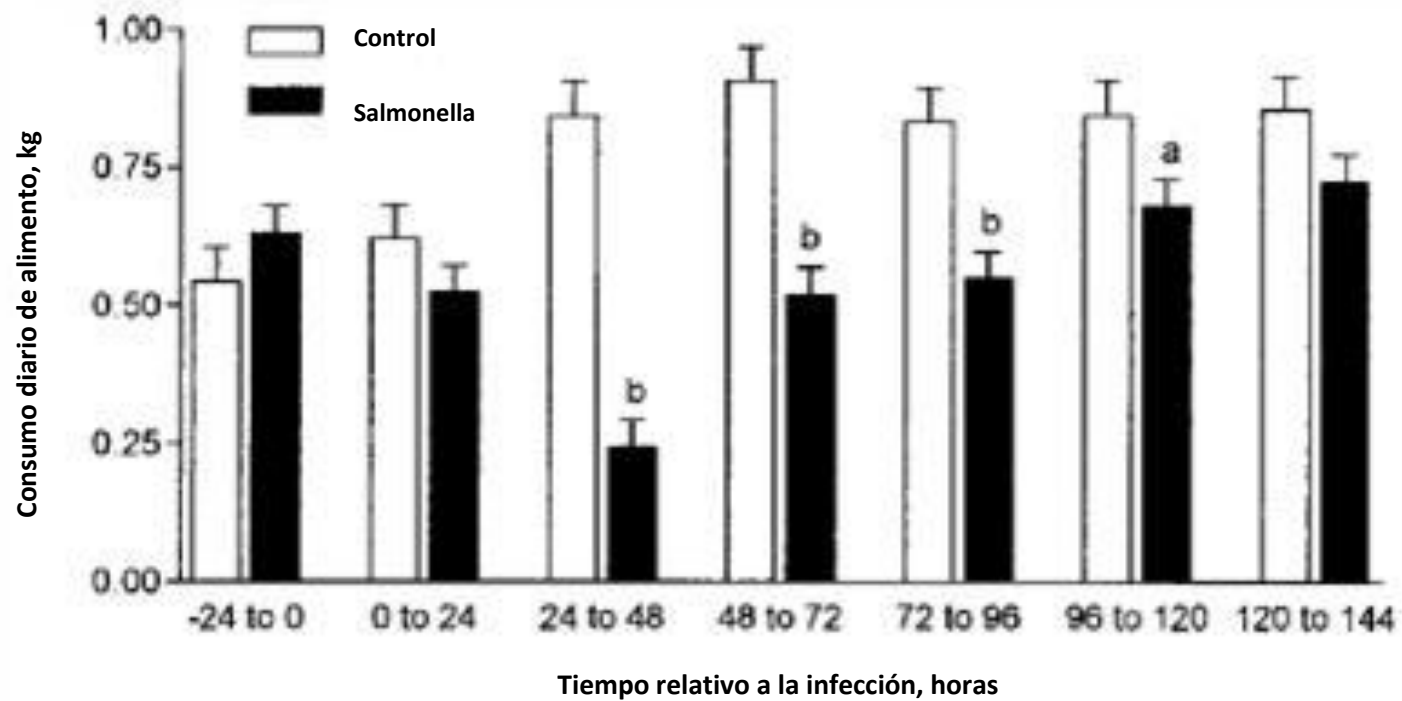
Figura 8. Ganancia diaria de peso de cerdos inoculados oralmente con  $3 \times 10^9$  UFC de *S. typhimurium* o con medio de cultivo estéril.



Los superíndices denotan las diferencias entre los tratamientos ( $P < .001$ ).

Fuente: Modificado de Balaji *et al.*, (2000)

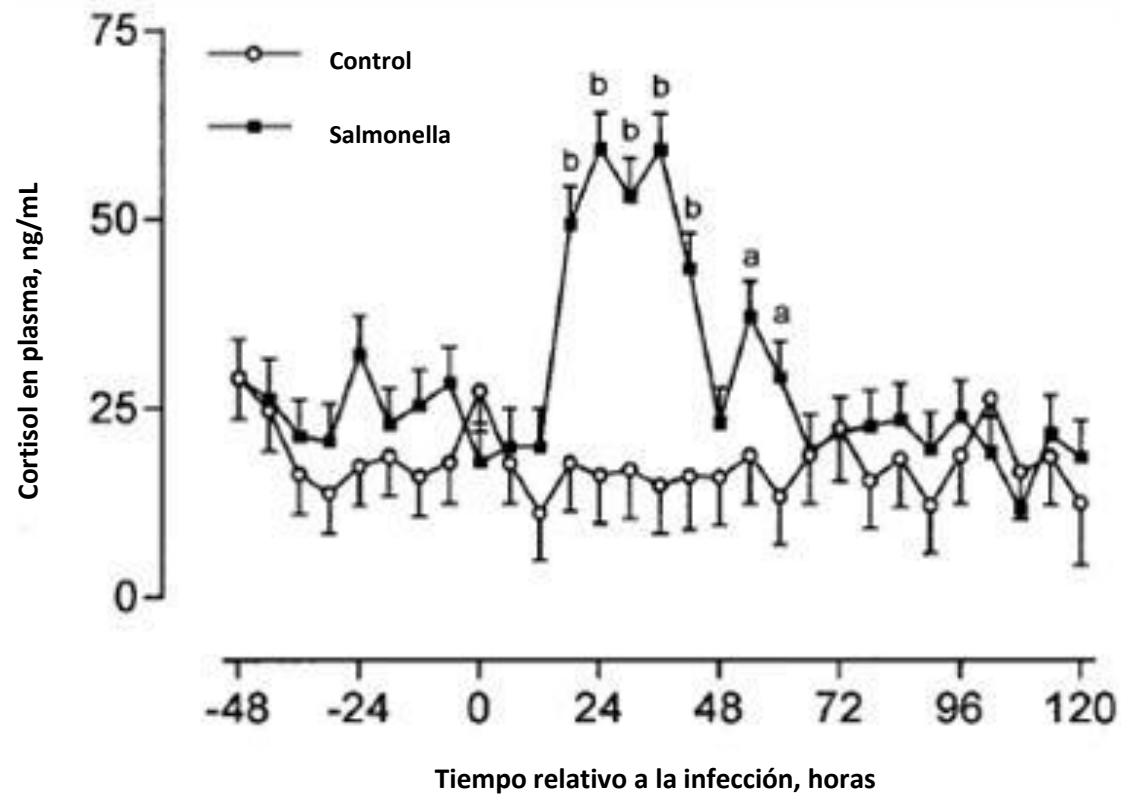
Figura 9. Consumo diario de alimento, de cerdos inoculados oralmente con  $3 \times 10^9$  UFC de *S. typhimurium* o con medio de cultivo estéril.



Los superíndices denotan las diferencias entre los tratamientos (<sup>a</sup>  $P < .05$ ; <sup>b</sup>  $P < .001$ ).

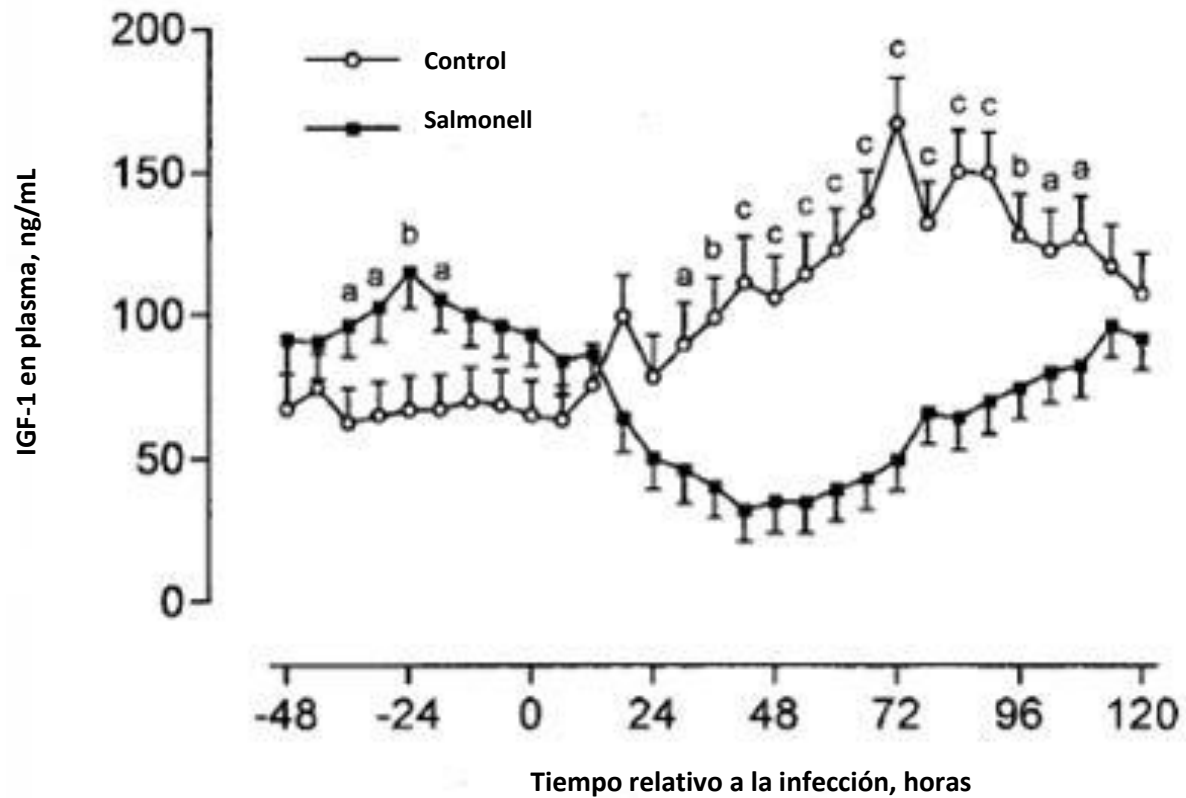
Fuente: Modificado de Balaji *et al.*, (2000)

Figura 10. Concentraciones plasmáticas de cortisol en cerdos inoculados oralmente con  $3 \times 10^9$  UFC de *S. typhimurium* o con medio de cultivo esteril. Los superíndices denota las diferencias entre los tratamientos (<sup>a</sup> P<.05; <sup>b</sup> P<.001).



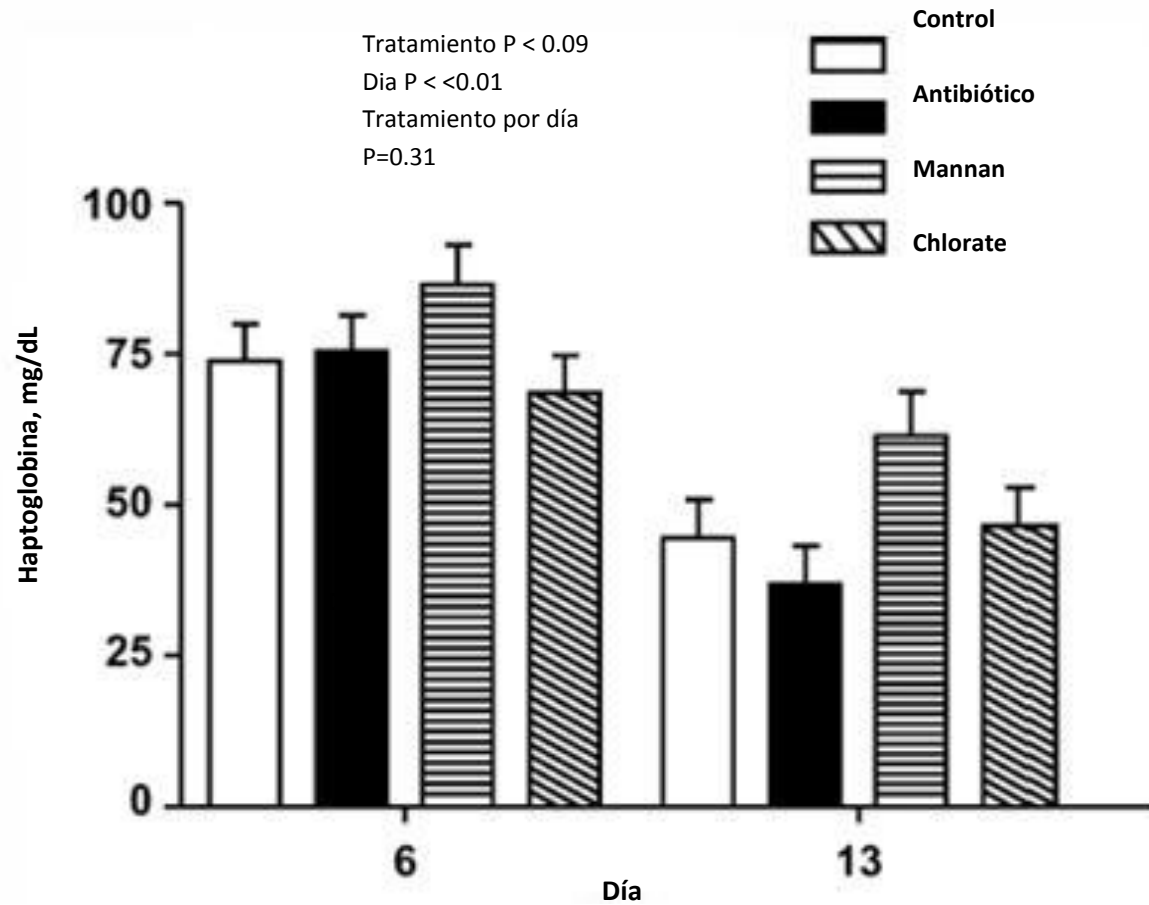
Fuente: Modificado de Balaji *et al.*, (2000)

Figura 11. Concentraciones plasmáticas del factor de crecimiento insulínico tipo 1 (IGF-1) en cerdos inoculados oralmente con  $3 \times 10^9$  UFC de *S. typhimurium* o con medio de cultivo estéril. Los superíndices denotan las diferencias entre los tratamientos (<sup>a</sup> P<.05; <sup>b</sup> P<.01; <sup>c</sup> P<.001).



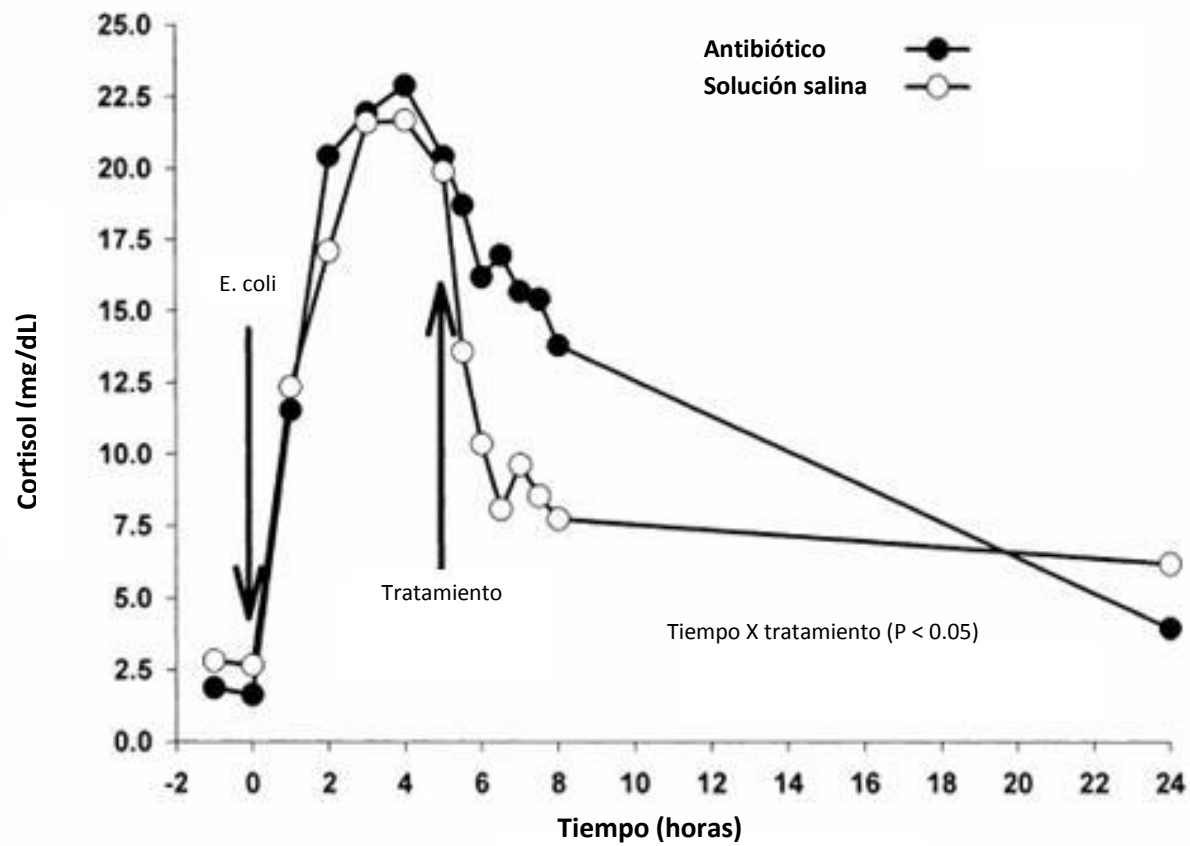
Fuente: Modificado de Balaji *et al.*, (2000)

Figura 12. Concentraciones sericas de haptoglobina en cerdos alimentados con distintas dietas: sin antimicrobiano (control), carbadox, mananoligosacaridos (Mannan), y clorato de sodio (Chlorate). Barras sin letra en común difieren ( $P < 0.05$ ).



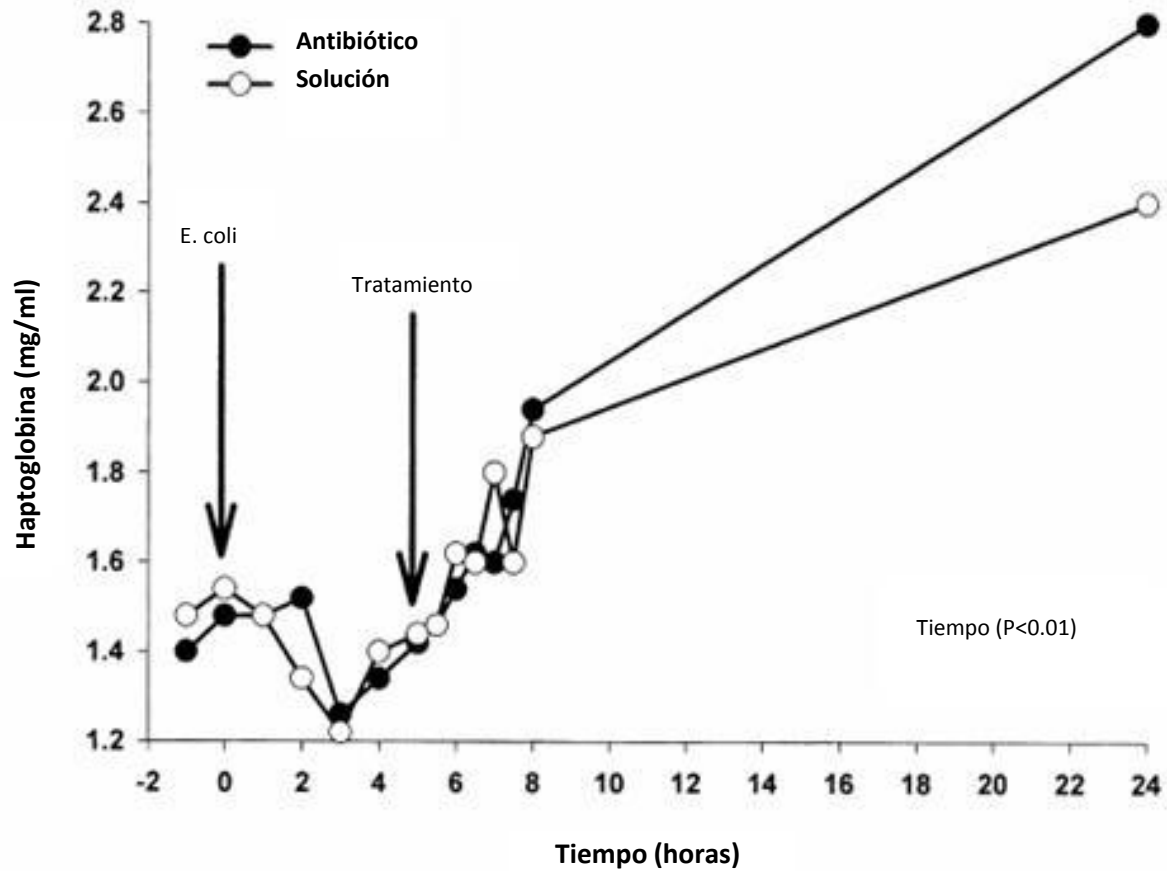
Fuente: Modificado de Burkey *et al.*, (2004)

Figura 13. Concentraciones sericas de cortisol ( $\mu\text{g/dL}$ ) de -1 a 24 horas post-ingestión de *E. coli* en 12 cerdos canalizados via yugular (n= 6 cerdos/grupo).



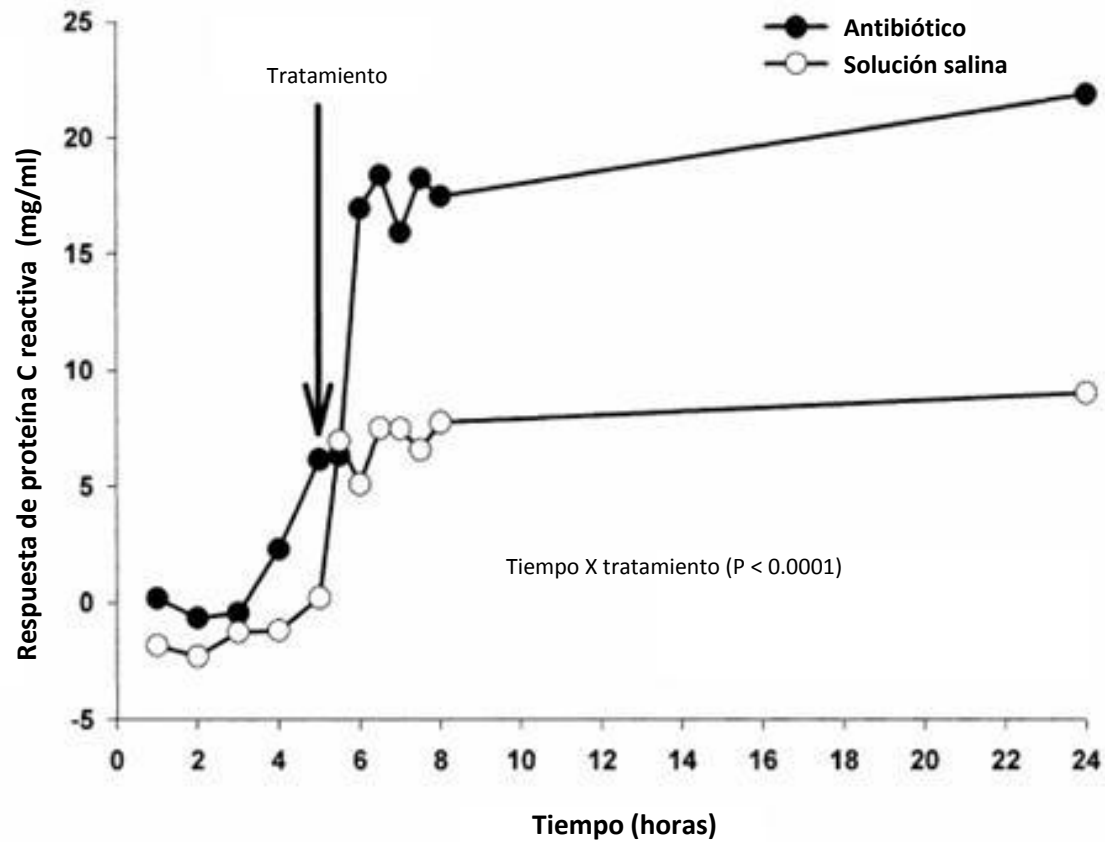
Fuente: Modificado de Carroll *et al.*, (2004)

Figura 14. Concentraciones sericas de haptoglobina (mg/ml) de -1 a 24 horas post-ingestión de *E. coli* en 12 cerdos canalizados via yugular (n= 6 cerdos/grupo).



Fuente: Modificado de Carroll *et al.*, (2004)

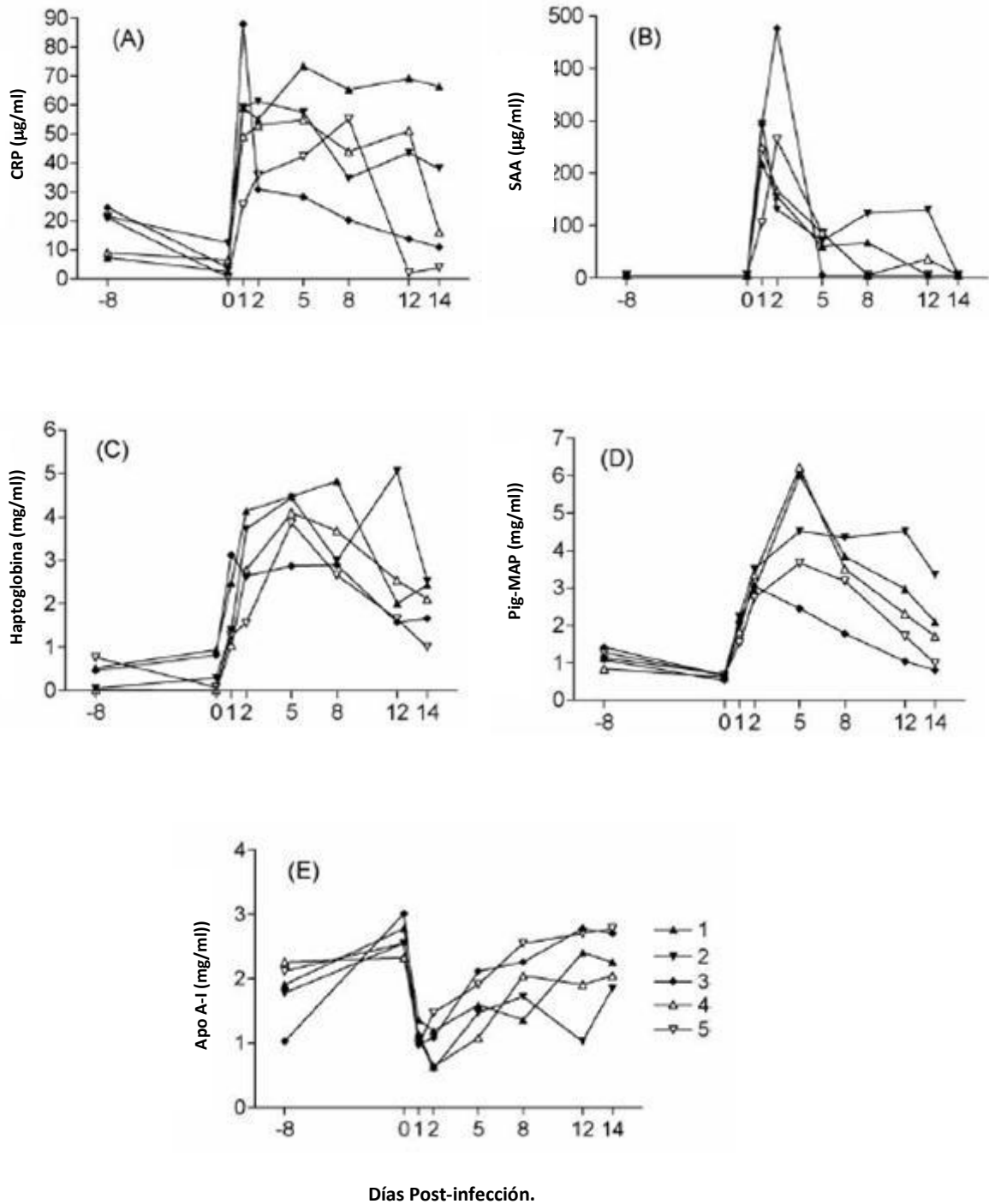
Figura 15. Cambios en la proteína C-reactiva (CRP), los datos presentados representan la respuesta de CRP (mg/ml) en comparación con el tiempo 0 (calculado por sustracción de los valores del tiempo 0 de los valores de cada tiempo) en 12 cerdos canalizados via yugular (n= 6 cerdos/grupo).



Fuente: Modificado de Carroll *et al.*, (2004)



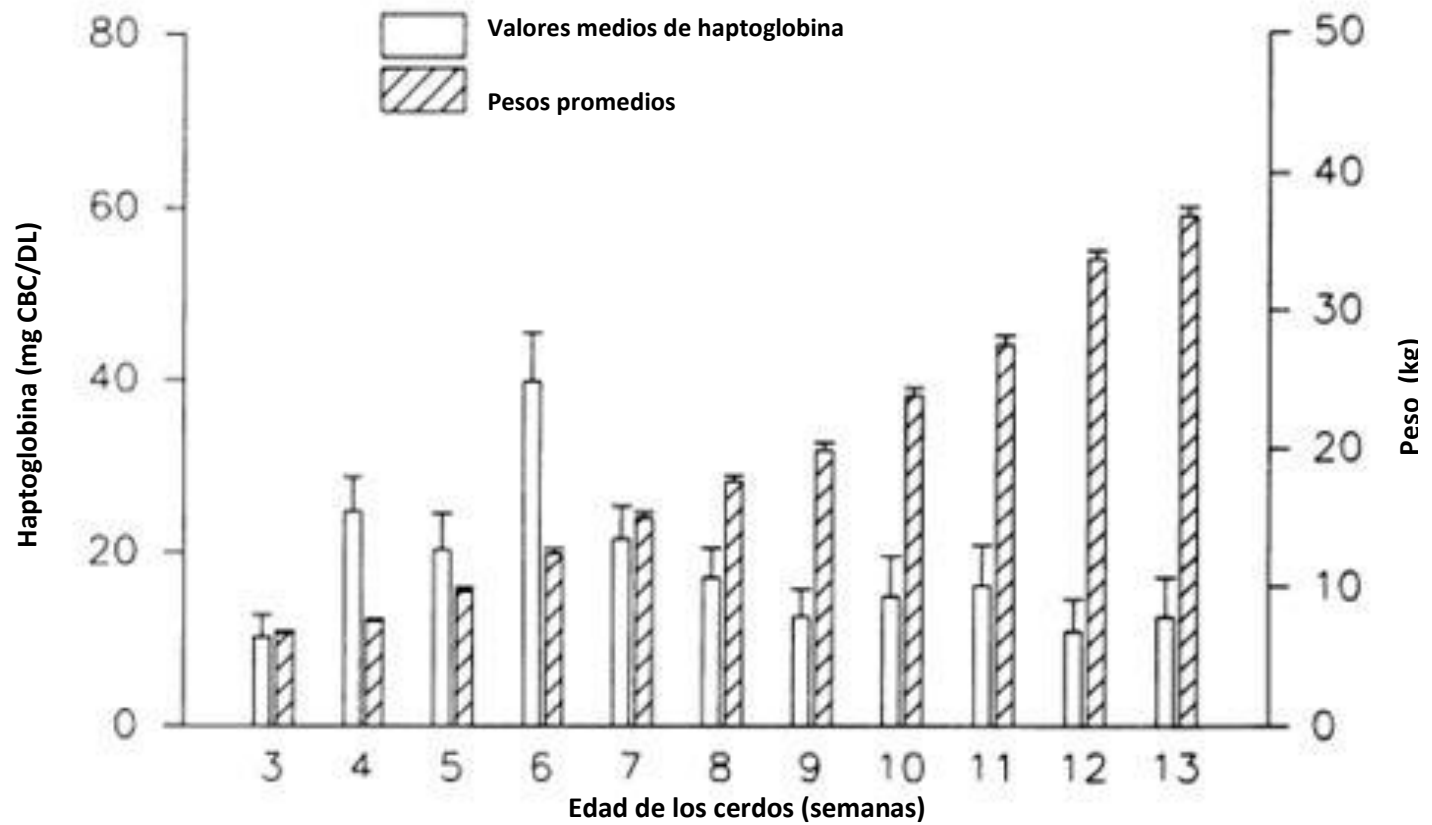
Figura 16. Concentraciones de CRP (A), SAA (B), Hp (C), Pig-MAP (D) y Apo A-I (E) en suero de cerdos en varios puntos de tiempo antes y después de la inoculación s.c con *S. suis*.



Fuente: Modificado de Sorensen *et al.*, (2006)

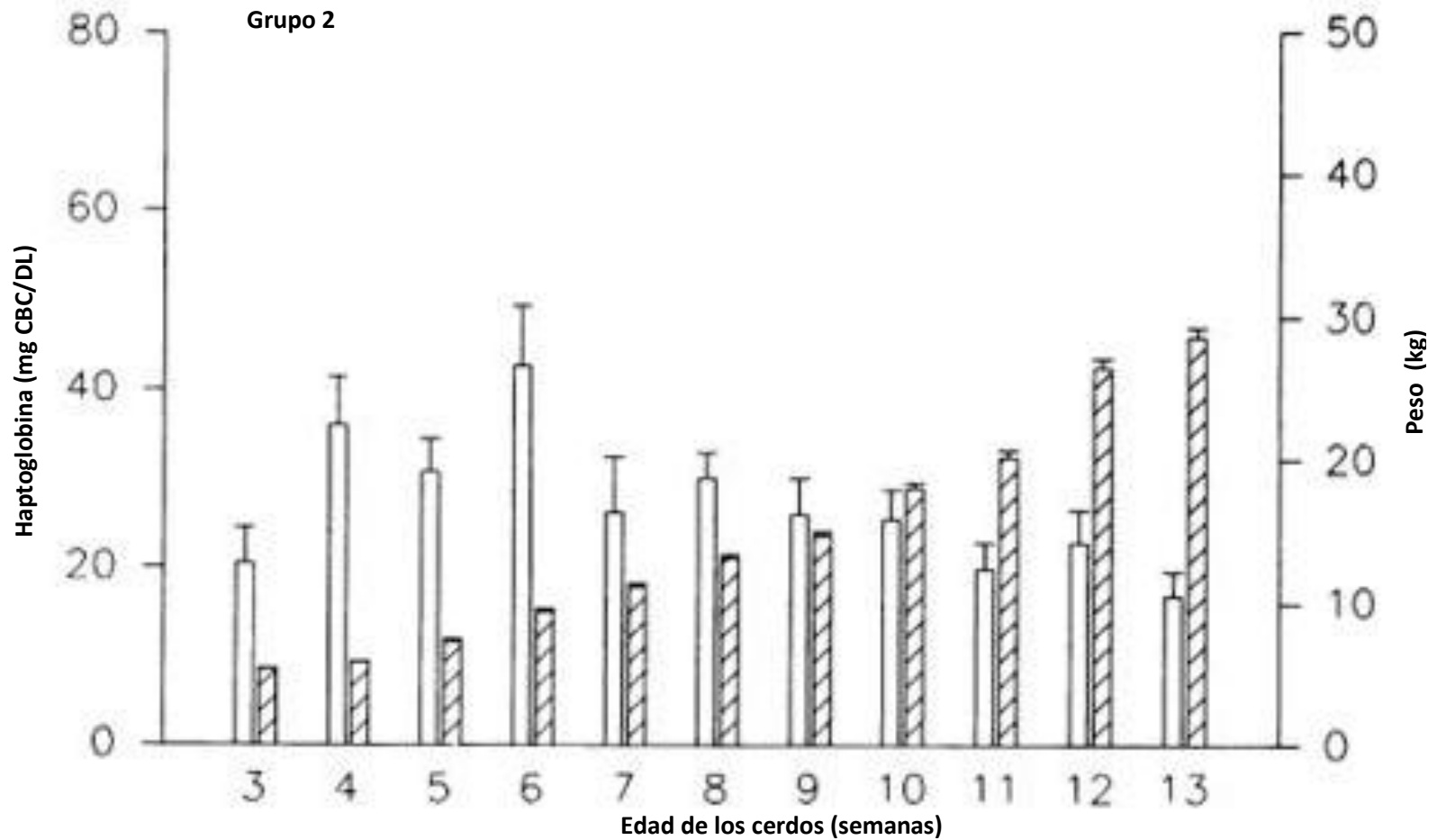
Figura 17. Valores medios semanales para las concentraciones de haptoglobina y pesos de los cerdos criados en una granja comercial. Grupo 1 Los valores promedio mas altos.

Grupo 1



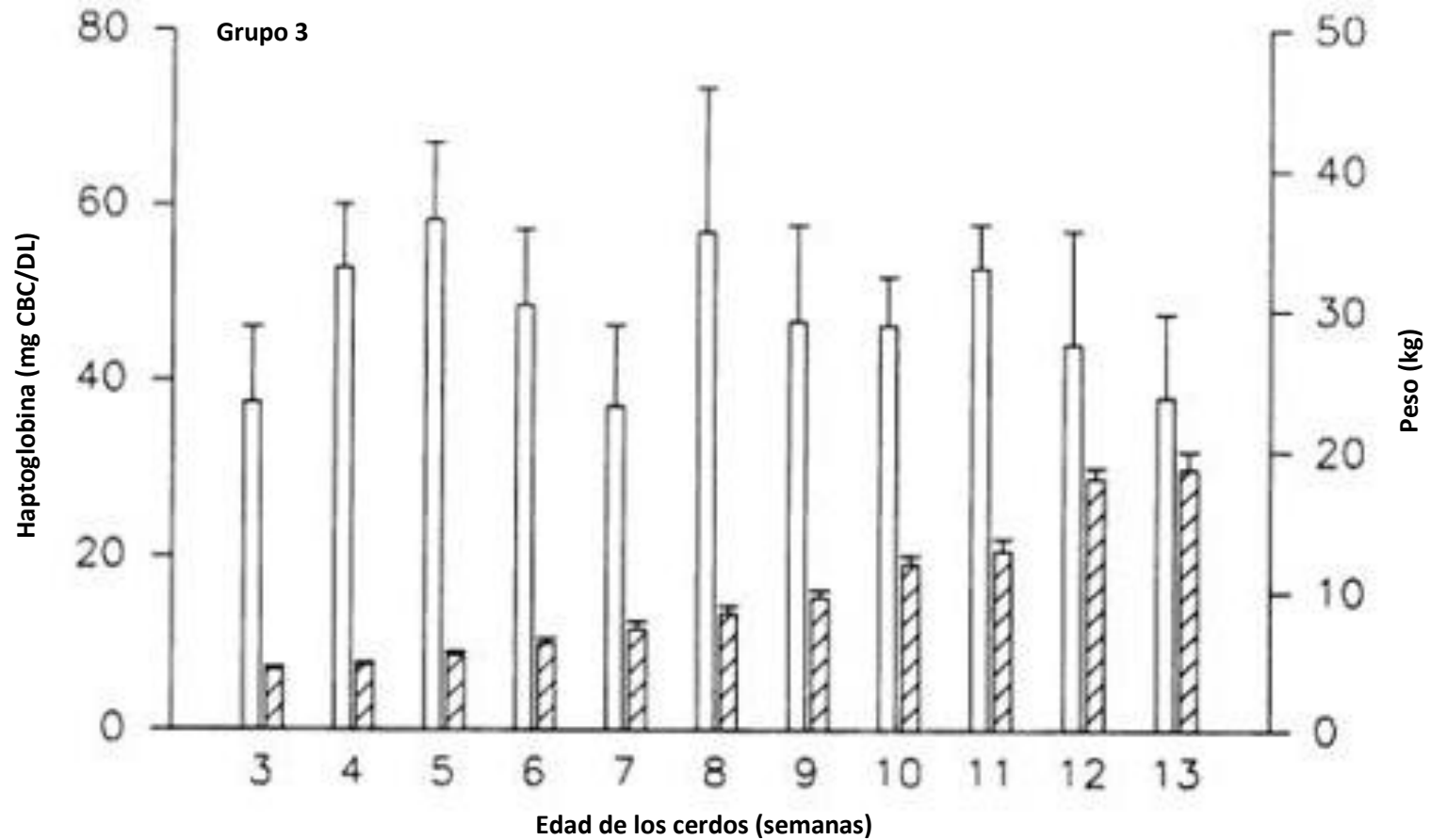
Fuente: Modificado de Eurell *et al.*, (1992)

Figura 18. Valores medios semanales para las concentraciones de haptoglobina y pesos de los cerdos criados en una granja comercial. Grupo 2 Los valores promedio intermedios.



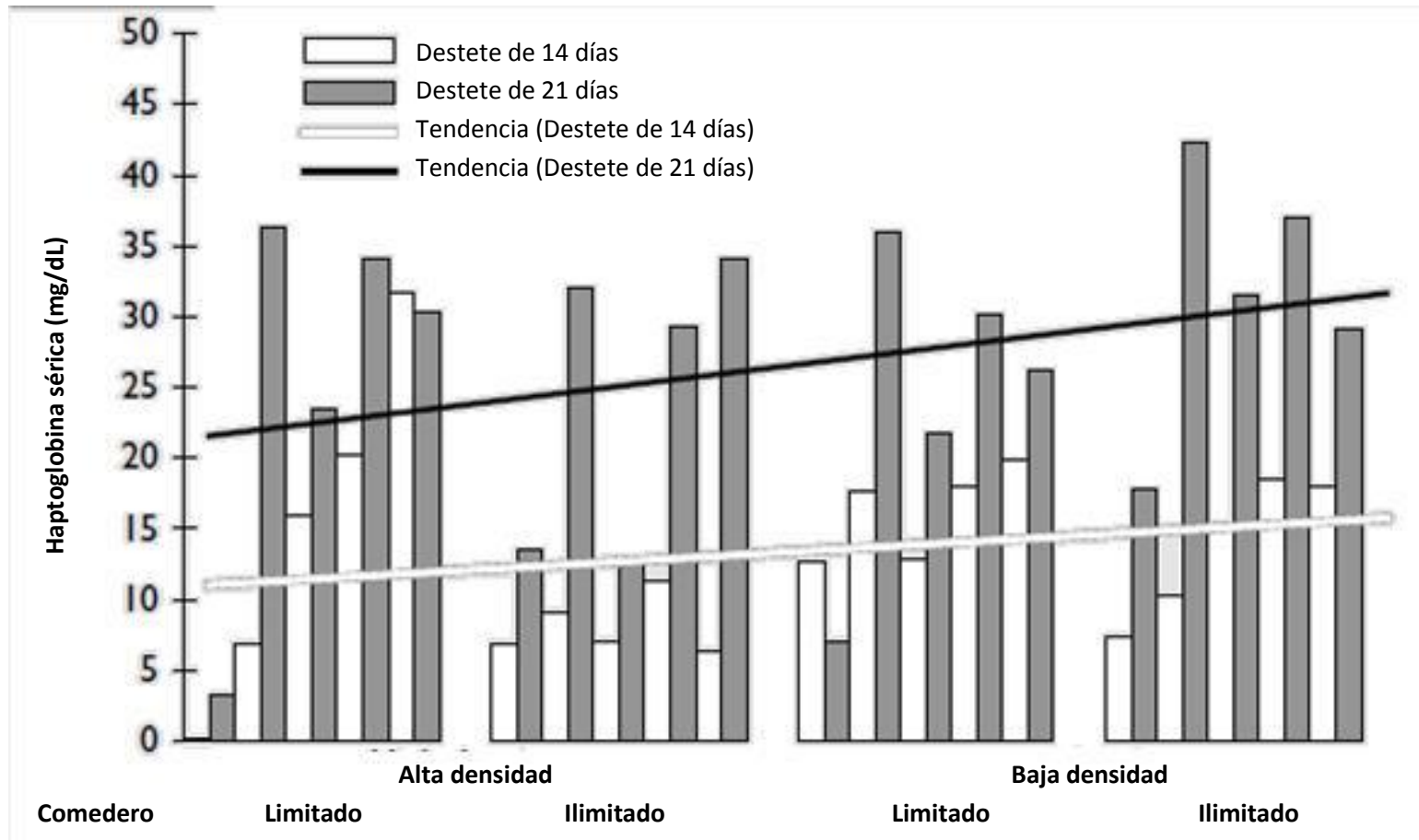
Fuente: Modificado de Eurell *et al.*, (1992)

Figura 19. Valores medios semanales para las concentraciones de haptoglobina y pesos de los cerdos criados en una granja comercial. Grupo 3 Los valores promedio mas bajos.



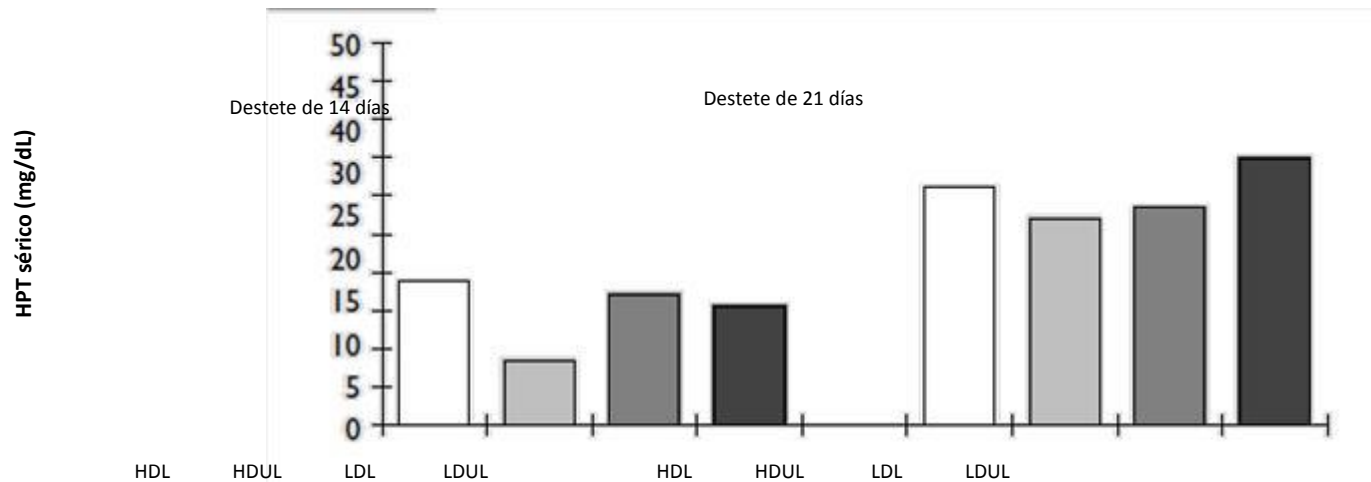
Fuente: Modificado de Eurell *et al.*, (1992)

Figura 20. Concentración media de haptoglobina (Hp mg/dL) (0, 1, 2, 3, y 4 semanas post-destete en cerdos de 14 y 21 días de edad expuestos a diferentes factores estresantes como: destete, densidad de corral, y espacio de comedero (n=128).



Fuente: Modificado de Francisco *et al.*, (1996)

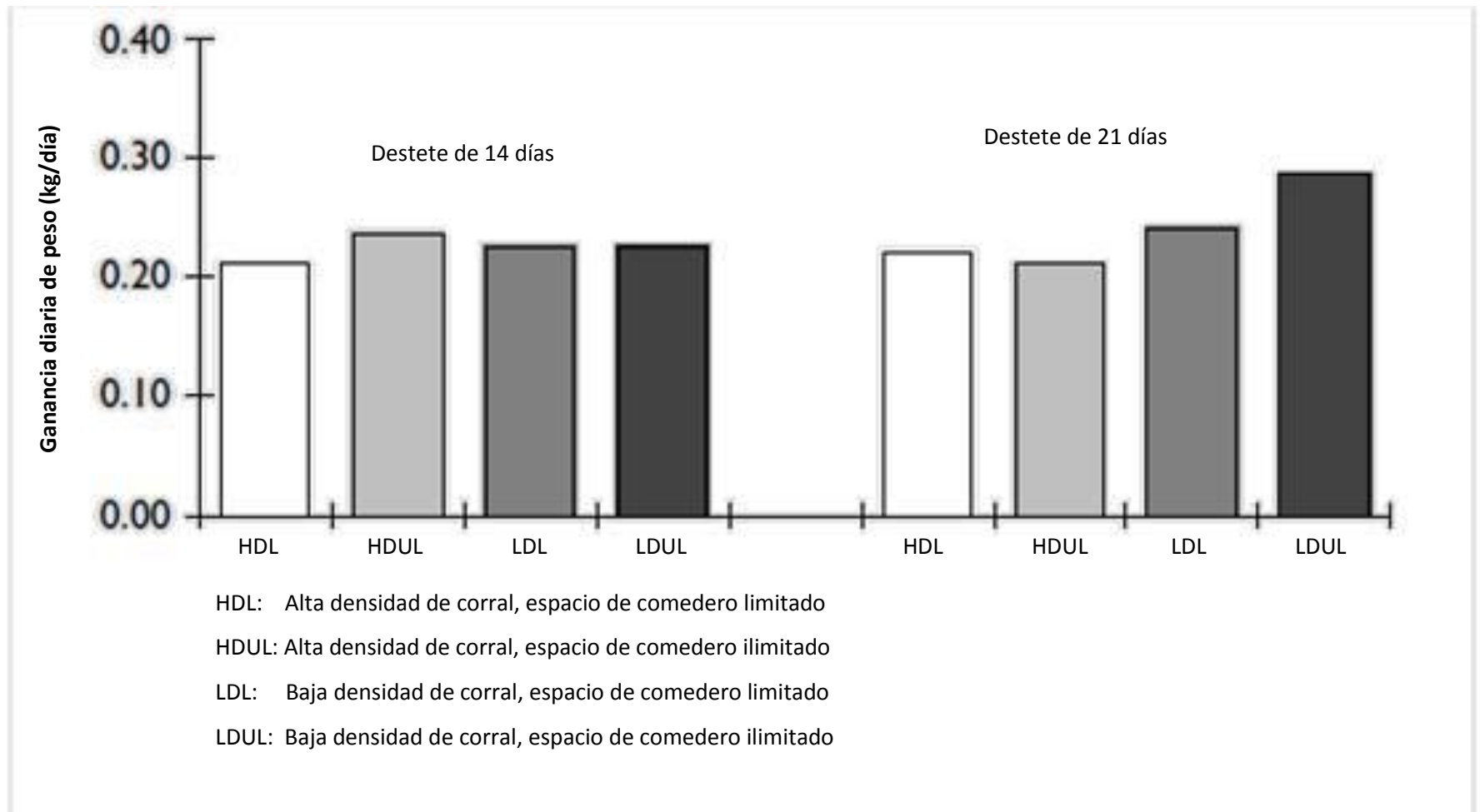
Figura 21. Gran media de la concentración sérica de haptoglobina (Hp mg/dL) (Semanas 1-4 post-destete) en cerdos de 14 y 21 días de edad expuestos a diferentes factores estresantes como: destete, densidad de corral, y espacio de comedero (n= 128).



HDL: Alta densidad de corral, espacio de comedero limitado  
 HDUL: Alta densidad de corral, espacio de comedero ilimitado  
 LDL: Baja densidad de corral, espacio de comedero limitado  
 LDUL: Baja densidad de corral, espacio de comedero ilimitado

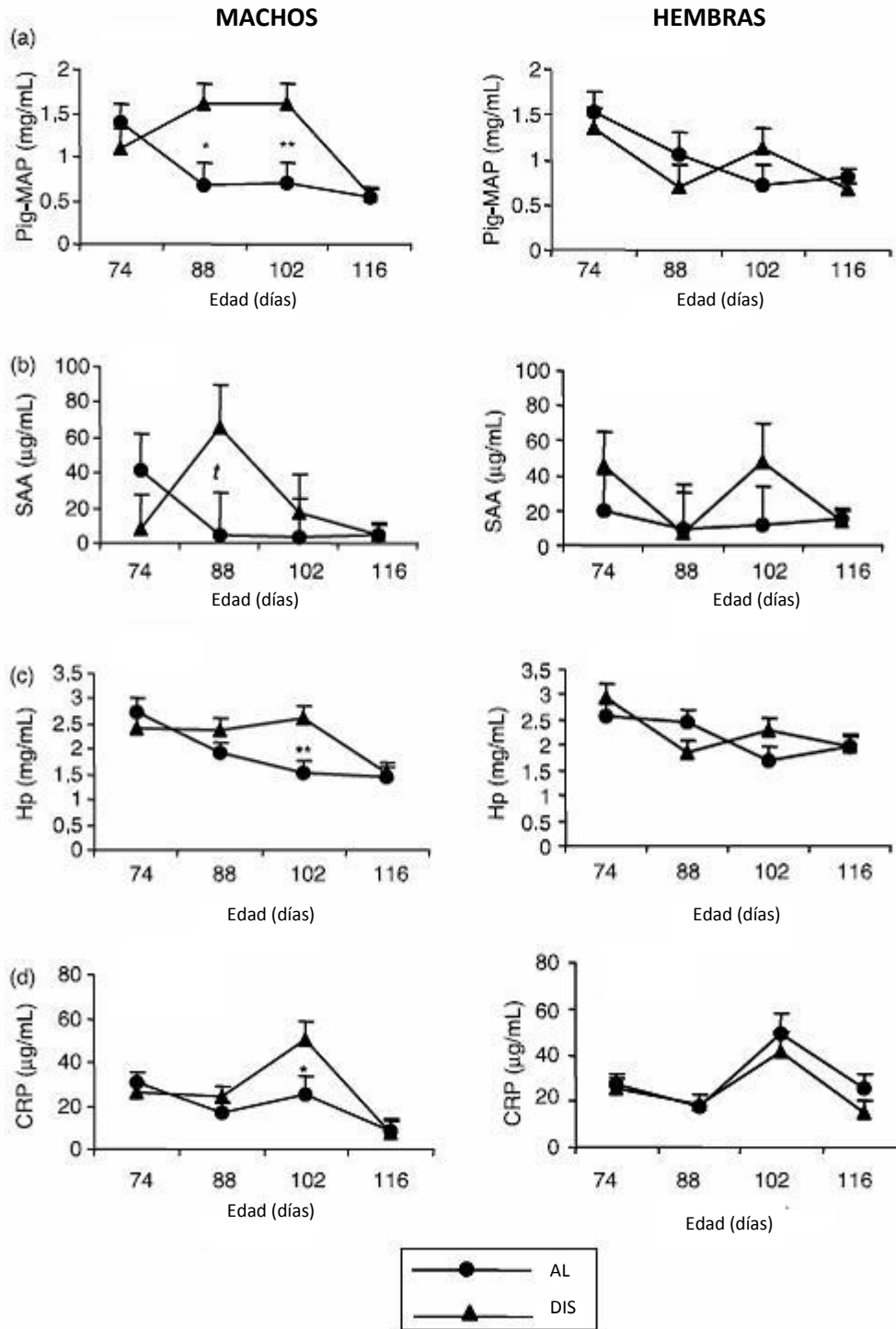
Fuente: Modificado de Francisco *et al.*, (1996).

Figura 22. Ganancia diaria de peso (Kg/día) en cerdos de 14 y 21 días de edad expuestos a diferentes factores estresantes como: destete, densidad de corral, y espacio de comedero (n= 128).



Fuente: Modificado de Francisco *et al.*, (1996)

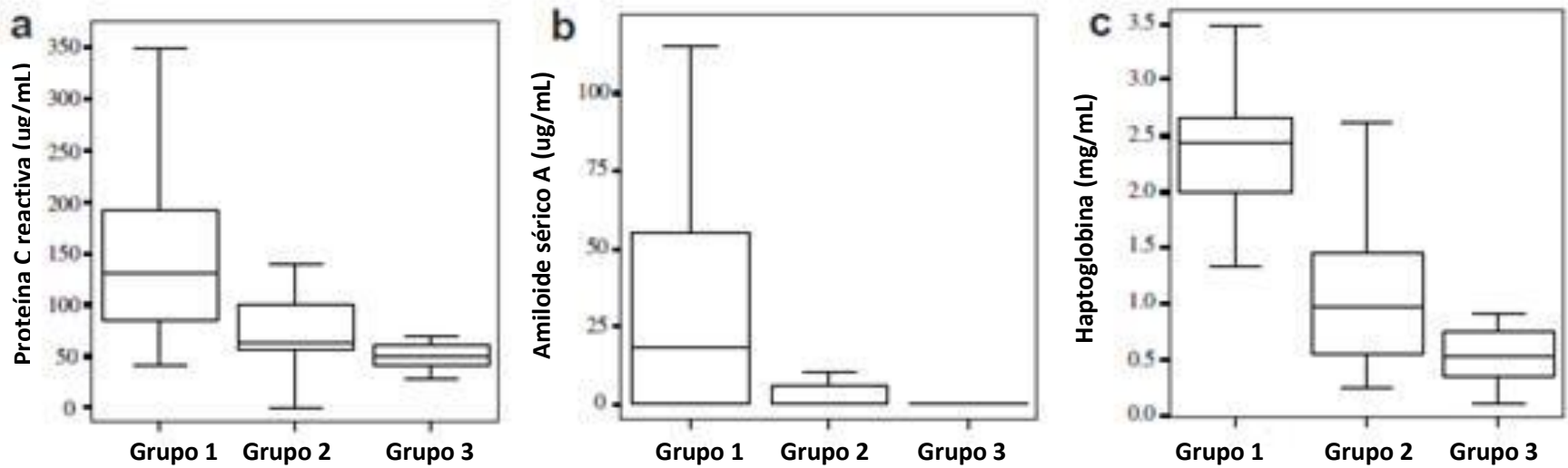
Figura 23. Curso en el tiempo de las concentraciones de (a) Pig-MAP, (b) SAA, (c) haptoglobina y (d) CRP. AL: animales control alimentación *ad libitum*. DIS: animales alimentados siguiendo un patrón desordenado de administración del alimento.



Fuente: Modificado de Piñeiro C. *et al.*, (2006)

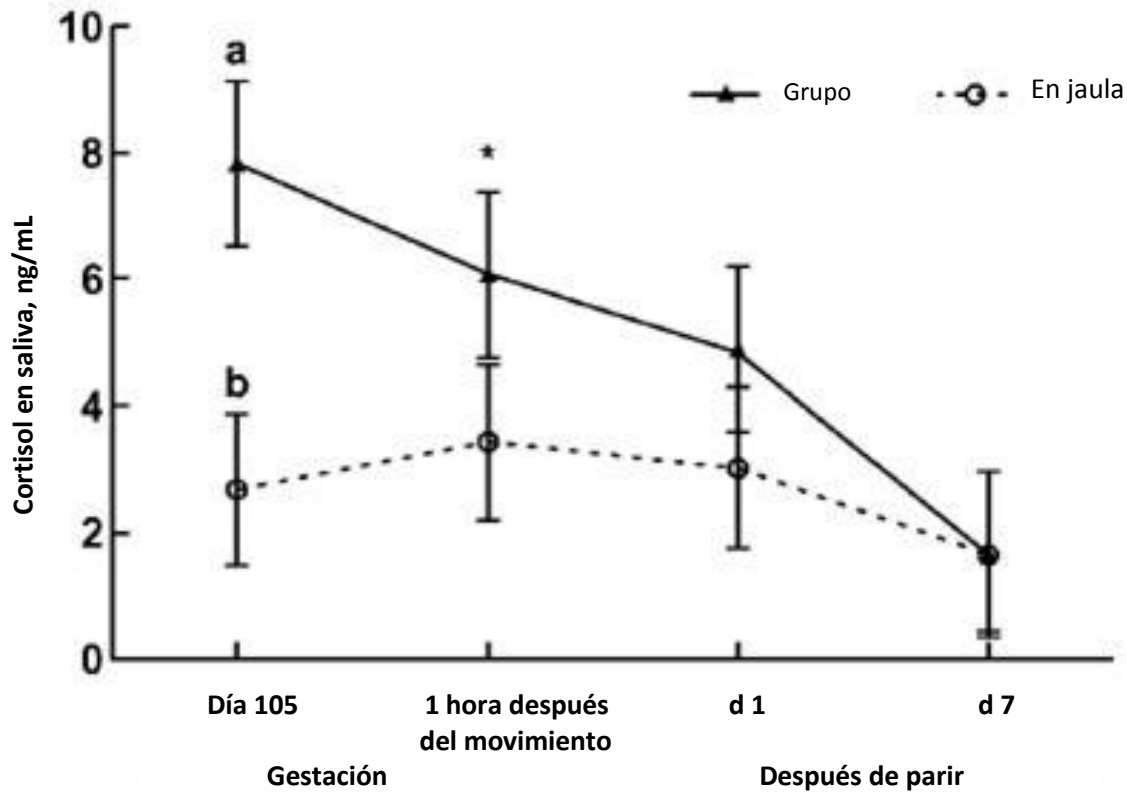


Figura 24. Concentraciones séricas de (a) proteína C-reactiva, (b) amiloide sérico A y (c) haptoglobina en cerdos agrupados en tres grupos (Grupo 1, 2, y 3). La media está marcada con una línea. La caja muestra los percentiles 25 y 75. Los extremos muestran los valores máximos y mínimos.



Fuente: Modificado de Francisco *et al.*, (2007)

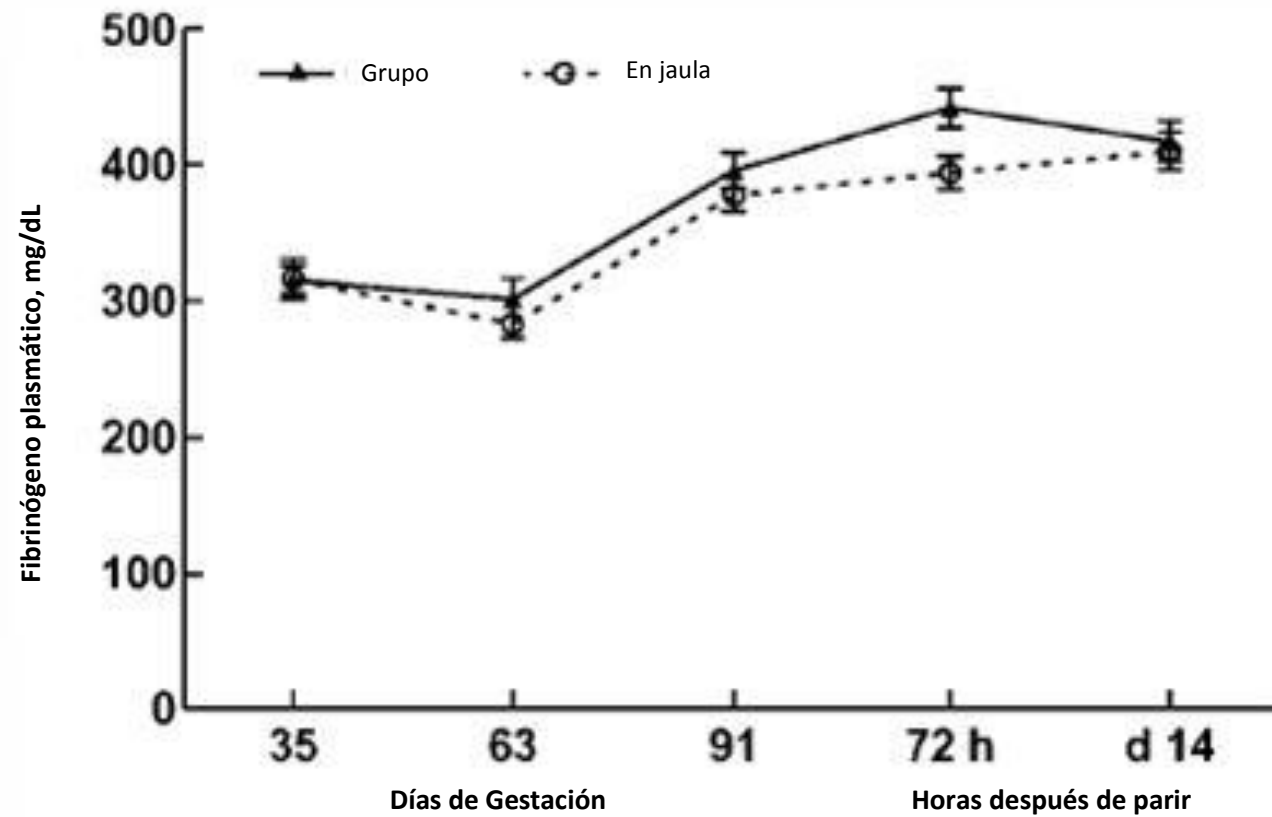
Figura 25. Concentraciones medias de cortisol en saliva (ng/ml)  $\pm$  SE de cerdas alojadas en grupos (grupo, n= 8) o en jaula (jaula, n= 16) durante la gestación y en jaulas durante el parto y lactación.



<sup>a, b</sup>Medias dentro de un mismo periodo de tiempo y carentes de un superíndice en común difieren ( $P < 0.05$ ). \* Existe una tendencia entre tratamientos ( $P = 0.09$ ) en 1 hora después de haber movido a las cerdas dentro de las jaulas de parición. Efecto tiempo ( $P < 0.05$ ). Tiempo x tratamiento no fue significativo ( $P = 0.14$ ).

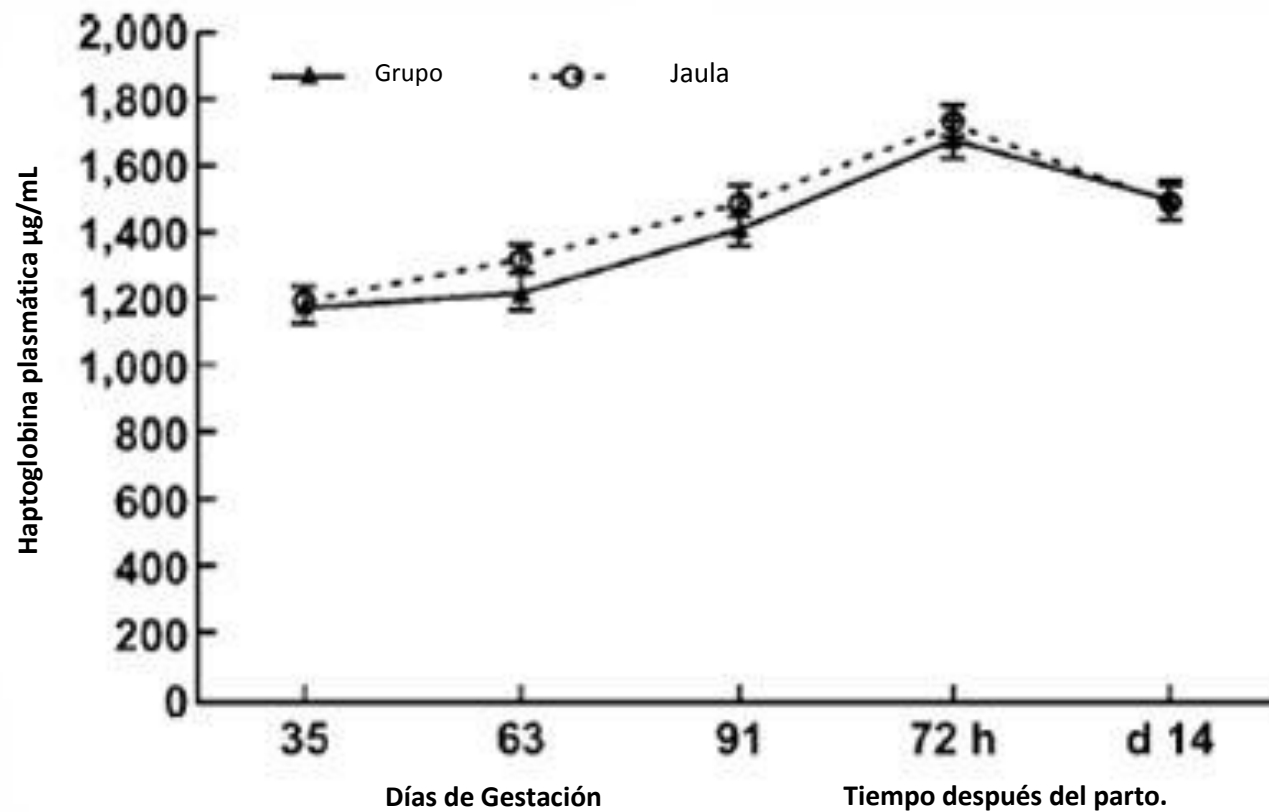
Fuente: Modificado de Sorrells *et al.*, (2007).

Figura 26. Concentraciones medias de fibrinógeno (mg/dl)  $\pm$  SE de cerdas alojadas en grupos (grupo, n= 8) o en jaula (jaula, n= 16) durante la gestación y en jaulas durante el parto y lactación. Efecto tiempo ( $P < 0.001$ ). No hubo efecto por tratamiento ( $P > 0.10$ ).



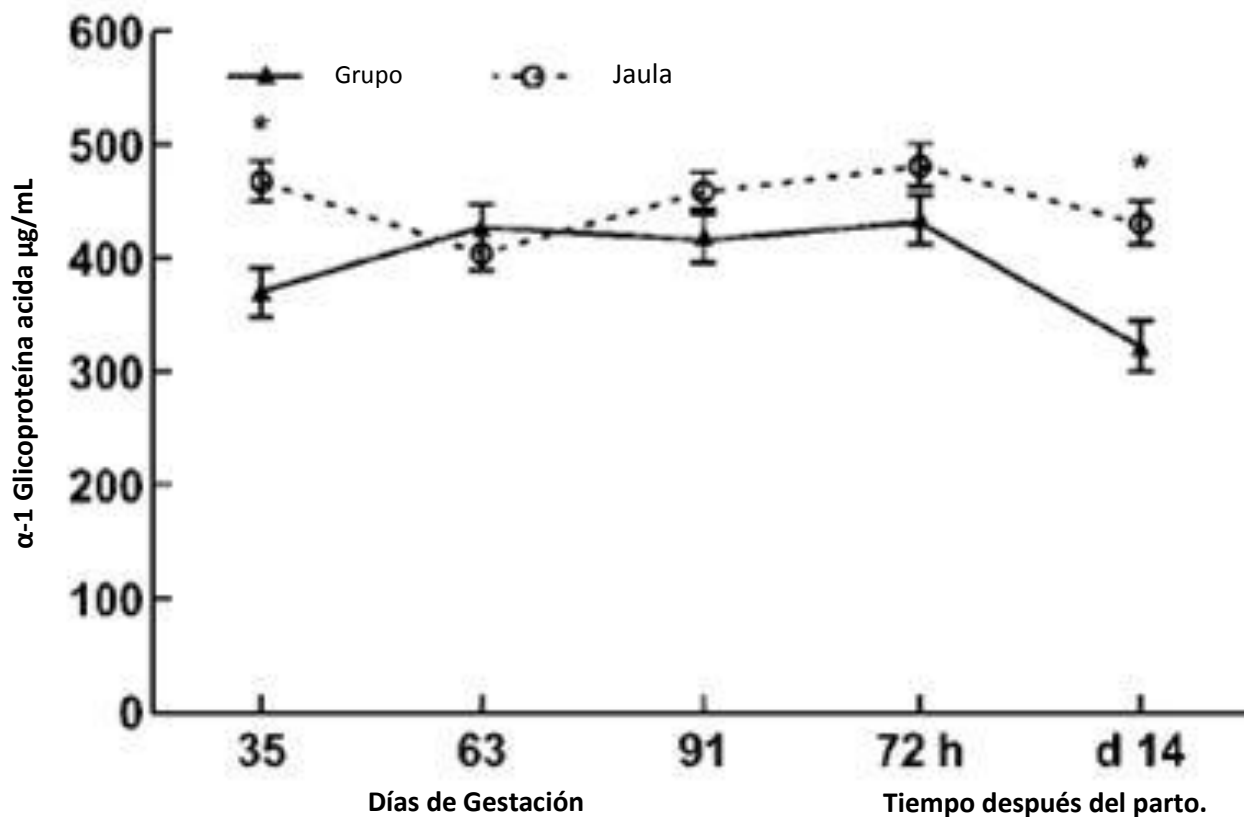
Fuente: Modificado de Sorrells *et al.*, (2007)

Figura 27. Concentración media de la haptoglobina ( $\mu\text{g/ml}$ )  $\pm$  SE de cerdas alojadas en grupos (grupo,  $n= 8$ ) o en jaula (jaula,  $n= 16$ ) durante la gestación y en jaulas durante el parto y lactación. Efecto tiempo ( $P < 0.001$ ). No hubo efecto por tratamiento ( $P > 0.10$ ).



Fuente: Modificado de Sorrells *et al.*, (2007)

Figura 28. Concentración media de la  $\alpha_1$ -glicoproteína ácida ( $\mu\text{g/ml}$ )  $\pm$  SE de cerdas alojadas en grupos (grupo, n= 8) o en jaula (jaula, n= 16) durante la gestación y en jaulas durante el parto y lactación.



Existe una diferencia en la tendencia para el tratamiento en el día 35 de gestación ( $P = 0.07$ ) y otra vez en el día 14 después del parto ( $P = 0.07$ ). Efecto tiempo no fue significativo ( $P > 0.10$ ).

Fuente: Modificado de Sorrells *et al.*, (2007)