

11621
22

**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO**



FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
CUAUTITLAN

"INMUNOLOGIA VETERINARIA APLICADA"
"RESPUESTA INMUNE CONTRA ACTINOBACILLUS
PLEUROPNEUMONIAE."

TRABAJO DE SEMINARIO
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:
MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA
P R E S E N T A :
HECTOR ESCOBAR LOPEZ

ASESORES: M.C. ANDREA RODRIGUEZ ROPON
M.V.Z. ALEJANDRO VARGAS SANCHEZ
DR. TONATIUH CRUZ SANCHEZ

CUAUTITLAN IZCALLI, EDO. DE MEXICO.

2003.

1

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

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



ESTADOS UNIDOS MEXICANOS

U. N. A. M.
FACULTAD DE ESTUDIOS
SUPERIORES CUAUTITLAN



DEPARTAMENTO DE
EXAMENES PROFESIONALES

DR. JUAN ANTONIO MONTARAZ CRESPO
DIRECTOR DE LA FES CUAUTITLAN
P R E S E N T E

ATN: Q. Ma. del Carmen García Mijares
Jefe del Departamento de Exámenes
Profesionales de la FES Cuautitlán

Con base en el art. 51 del Reglamento de Exámenes Profesionales de la FES-Cuautitlán, nos permitimos comunicar a usted que revisamos el Trabajo de Seminario
Inmunología Veterinaria Aplicada.

Respuesta inmune contra Actinobacillus pleuropneumoniae.

que presenta el pasante Héctor Escobar López.
con numero de cuenta 9556215-3 para obtener el titulo de
Médico Veterinario Zootecnista.

Considerando que dicho trabajo reúne los requisitos necesarios para ser discutido en el EXAMEN PROFESIONAL correspondiente, otorgamos nuestro VISTO BUENO

A T E N T A M E N T E

"POR MI RAZA HABLARA EL ESPIRITU"

Cuautitlán Izcalli, Méx. a 22 de Octubre de 2003

MODULO

PROFESOR

FIRMA

1,4

MVZ. Alejandro Vargas Sánchez.

1,4

MC. Andrea Rodríguez Ropón.

1

Dr. Tonatiuh A Cruz Sánchez.

2

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

AGRADESIMIENTOS.

Agradezco a DIOS por permitirme ver un amanecer más y llegar a este día tan importante para mí.

Agradezco a la Universidad Autónoma de México y a la Facultad de Estudios Superiores Cuatitlán por abrir sus puertas a todas las personas que desean estudiar y forjarse como personas profesionales.

Agradezco a todos mis profesores sin excepción, que formaron parte de mi formación académica.

A mis padres y hermanos quienes me apoyaron para terminar este proyecto.

Agradezco de corazón todas las ayudas y muestras de afecto y amistad que recibí y con quien pase ratos agradables al igual que amargos en esta etapa de mi vida gracias amigos.

No hay secreto para el éxito. Este se alcanza preparándose. Trabajando arduamente y aprendiendo del fracaso.

La lectura es una manera de vivir más plenamente y con mayores satisfacciones.

No hay que limitarnos solamente a tener vida, hay que aspirar a ser más.

El secreto de una vida plena es tener más comienzos que finales.

Quisiera compartir con ustedes el secreto que me a llevado a alcanzar mis metas: mi fuerza reside únicamente en mi tenacidad.

La integridad es hacer lo correcto aunque nadie nos este mirando.

Para ser dichoso y serlo con seguridad es necesario procurar que los demás lo sean también.

El tiempo perdido no se recupera nunca y cuando desistimos que tenemos tiempo de sobra descubrimos que siempre nos falta tiempo.

Solo hay una manera de encontrar la vida dichosa y es buscando el bien y la verdad de ella.

El éxito en la vida no depende del azar; es la suma de modestos triunfos acumulados.

El éxito se interroga a sí mismo: el triunfo a los demás.

Aprovechar un buen consejo requiere de más sabiduría que darlo.

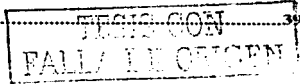
No olvides que para triunfar necesitas recapacitar:

- ❖ En el valor del tiempo.
- ❖ El éxito de la perseverancia.
- ❖ El placer de trabajar.
- ❖ La dignidad de la sencillez.
- ❖ El valor de carácter.
- ❖ El poder de la amabilidad.
- ❖ La influencia del trabajo.
- ❖ La obligación del deber.
- ❖ La sabiduría de la economía.
- ❖ La virtud de la paciencia.
- ❖ El mejoramiento del talento.
- ❖ La alegría de la iniciativa.

Indice.

Justificación.....	1
Resumen.....	2
1. Introducción.....	3
1.1 Impacto en la industria porcina.....	3
1.2 Descripción de la enfermedad.....	3
1.2.1 Sinonimias.....	4
1.2.2 Definición.....	4
1.2.3 Transmisión.....	4
1.2.4 Historia de la enfermedad.....	4
2. Agente etiológico.....	4
2.1 Características morfológicas.....	5
2.2 Propiedades morfológicas.....	6
3. Factores de virulencia.....	9
3.1 Cápsula.....	9
3.2 Lipopolisacárido y proteínas de membrana interna.....	9
3.2.1 Lipopolisacáridos.....	9
3.2.2 Proteínas de membrana interna.....	10
3.3 Exotoxinas.....	10
3.4 Fimbrias de citoadherencia.....	12
3.5 Proteasas de secreción.....	12
3.6 Superóxido dismutasa.....	13
4. Distribución geográfica.....	13
4.1 Distribución regional.....	14
4.2 Distribución mundial.....	14
5. Factores predisponentes.....	15
6. Signos clínicos.....	15
6.1 Presentaciones de la enfermedad.....	16
6.1.1 Hiperaguda.....	16
6.1.2 Aguda.....	16
6.1.3 Crónica.....	16
6.2 Lesiones macroscópicas.....	16
6.3 Lesiones histopatológicas.....	18
7. Prevención y control.....	18

8. Sinergismo de <i>Actinobacillus pleuropneumoniae</i> con otros microorganismos.....	19
9. Diagnostico y tipificación.....	21
9.1 Diagnostico clínico.....	21
9.2 Diagnostico morfológico.....	21
9.3 Aislamiento.....	21
9.3.1 Cultivos.....	21
9.4 Diagnostico serológico.....	22
9.4.1 Fijación del complemento.....	23
9.4.2 ELISA (Enzyme-linked Immunosorbent Assay).....	23
9.4.3 Aglutinación y conglutinación.....	24
9.4.4 Aglutinación en látex.....	24
9.4.5 Inmunofluorescencia indirecta.....	25
9.4.6 Precipitación en gel o inmunodifusión.....	25
9.4.7 Hemaglutinación indirecta.....	25
9.4.8 PLEUROTÉS.....	25
9.5 Métodos Basados en estudios de ácidos nucleicos.....	26
9.5.1 PCR (reacción cadena de la polimerasa).....	26
9.5.2 Tipificación por estudios de hibridación.....	26
10. Vacunación.....	27
10.1 Productos comerciales en México.....	29
11. Respuesta inmune contra <i>A. pleuropneumoniae</i>	30
11.1 Penetración.....	30
11.2 Colonización.....	30
11.3 Lipopolisacáridos.....	31
11.4 Fagocitosis.....	32
11.5 Liberación de radicales libres de oxígeno.....	32
11.6 Interacción de toxinas Apx con neutrófilos y macrófagos.....	33
11.7 Interacción con el complemento.....	33
12. Respuesta inmune específica.....	35
13. Inmunidad pasiva.....	36
Conclusiones.....	37
Lista de abreviaturas.....	38
Bibliografía.....	39



Indice de figuras

Figura 1. bacteria Gram (-).....	5
Figura 2. Tinción de Gram (-) de APP con aumento de 40x.....	6
Figuras 3 y 4. fenómeno de satelitismo de APP.....	6
Figura 5 Fenómeno de CAMP en cultivo de agar sangre de APP.....	7
Figura 6. Microfotografía electrónica de la cápsula de APP.....	9
Figura 7. Animales afectados con APP.....	15
Figuras 8 y 9. Lesiones necrótico-hemorrágica del pulmón característica de APP.....	17
Figura 10. Lesiones características de la fase hiperaguda en pulmón afectado por APP	18
Figura 11. Lesiones de fase hiperaguda en pulmón afectado con APP.....	18
Figura 12. Cultivos de APP.....	22
Figura 13. Microfotografía electrónica de la cápsula de APP la cual la protege de la acción del complemento.....	34
Figura 14. Anticuerpos cubriendo las partes susceptibles de la bacteria evitando la acción del complemento.....	34

Indice de tablas

Tabla 1. Principales actividades bioquímicas de APP.....	7
Tabla 2. Determinaciones principales y diferencias metabólicas entre APP y otros microorganismos.....	8
Tabla 3. Resumen de producción de toxinas por los serotipos de APP.....	11
Tabla 4. Factores de virulencia de APP y su función en la patogénesis.....	13
Tabla 5. Distribución regional de APP.....	14
Tabla 6. Distribución mundial de APP.....	14
Tabla 7. Vacunas simples utilizadas en México.....	29
Tabla 8. Vacunas mixtas utilizadas en México.....	30

Indice de esquema.

Esquema 1. Interacción de las toxinas de APP afectando la respuesta inmune humoral y celular.....	35
--	----



Justificación.

El siguiente trabajo se realizo pensando en la repercusiones que tiene la enfermedad causada por *Actinobacillus pleuropneumoniae*. Representa en la actualidad una de las enfermedades respiratorias porcinas de mayor interés en el mundo y que produce muchas bajas económicas en el sector porcino esto esta ligado a la alta mortalidad causada por la enfermedad, retraso en el crecimiento de los animales, perdidas en la ganancia diaria de peso y gastos en medicación.

Resumen.

La pleuroneumonía porcina es una de las enfermedades bacterianas más importantes que afecta al tracto respiratorio porcino.

Esta es producida por *Actinobacillus pleuropneumoniae* y se caracteriza por producir signos que varían de acuerdo a la edad del animal, su estado inmunitario las condiciones ambientales y el grado de exposición al agente infeccioso, una de las lesiones característica es una neumonía necrótico-hemorrágica con pleuritis fibrinosa.

El curso clínico de la enfermedad puede adoptar tres presentaciones hiperaguda, aguda y crónica. La enfermedad esta ampliamente distribuida en los países productores de porcinos de los cinco continentes su control se puede realizar mediante la utilización de antibióticos y vacunas.

Esta enfermedad fue observada por primera vez en los Estados Unidos por Pattison en 1957. El periodo de incubación es variable dependiendo de la virulencia de la cepa.

La presencia en la explotación de otras enfermedades inmunosupresoras como *Aujeszky* o PRRS, favorecen la entrada de *Actinobacillus pleuropneumoniae*, su principal vía de diseminación es por vía aérea a través de aerosoles aunque solo a cortas distancias.

Se han identificado dos biotipos que se clasifican en base a la dependencia de NAD para su crecimiento siendo el biotipo 1 NAD (+) y el más importante por ser el más patógeno y el más común, y el biotipo 2 NAD (-). En el biotipo uno se integran 12 serotipos y su especificidad se debe a polisacáridos capsulares y LPS.

La virulencia de *Actinobacillus pleuropneumoniae*, es multifactorial, integrados por la suma de distintos factores intracelulares y secretados. Entre los primeros se incluyen componentes de la membrana externa, como lipopolisacáridos, la cápsula y las fimbrias; mientras que en los segundos se incluyen sus toxinas Apx (operones) siendo estas uno de sus factores de virulencia más importantes y que contribuyen con la capacidad invasiva de la bacteria, sirven como un mecanismo de sobrevivencia en el interior de macrófagos y neutrófilos y además son responsables de producir daños tisulares y el desarrollo de las lesiones necrótico hemorrágicas características de esta enfermedad. Actuando sinérgicamente con las citocinas proinflamatorias y con la alta infiltración de macrófagos y neutrófilos.

La especificidad de especie esta dada principalmente por los receptores específicos contenidos en tracto respiratorio del pulmón porcino tanto para las fimbrias de esta bacteria como para la molécula lipídica A uno de los 3 componentes que constituyen a los lipopolisacáridos de las bacterias Gram (-), siendo esta molécula su principal adhesina.

La muerte de los animales comúnmente ocurre por una respuesta inmune exacerbada, provocada por esta bacteria, esto debido a la secreción de citocinas proinflamatorias como son FNT α , IL-1, IL-6, IL-8 y la infiltración de MQS y NQS, estos factores actúan sinérgicamente con los factores de virulencia de esta bacteria principalmente con sus toxinas y LPS a los cuales se les responsabiliza de producir daños tisulares. Además la respuesta inmune humoral también se ve alterada por que las toxinas Apx de esta bacteria afectan a los linfocitos Th2 CD4 se producen lesiones en los órganos linfoides secundarios favoreciendo con esto la cronicidad del proceso.

1. Introducción..

1.1. Impacto en la industria porcina.

En la actualidad, la insuficiencia de alimentos a nivel mundial ha obligado a los productores de cerdos a incrementar su producción, para cubrir las demandas. Los avances de industria porcina, se pueden encontrar, en cualquier renglón: nutrición, instalaciones, manejo, genética y diagnóstico; pero el área de la sanidad (enfermedades), continua siendo una gran limitante para la producción porcina (34).

Por lo tanto la situación actual en la producción porcina, se encuentra en condiciones muy distintas a las que se daban hace tan sólo unos años. Eso mismo ocurre en las patologías respiratorias y con las terapias que se han impuesto para su control.

Estas patologías a las que nos enfrentamos hoy en día son de origen múltiple con la participación de virus, bacterias y micoplasma, la inmunosupresión local o sistémica que crean algunos de estos patógenos, explican los malos resultados que se obtienen, cuando todo el control de los procesos se basa en la aplicación de terapia antibiótica en un brote de enfermedad (25).

De las neumonías causadas por estos patógenos en el cerdo la pleuroneumonía contagiosa porcina (PPC), es producida por *Actinobacillus pleuropneumoniae* porcino (APP) y es reconocida como la más nociva dentro de un granja debido a las repercusiones que tiene:

1. Presenta una mortalidad elevada de animales en las etapas de crecimiento y engorda, donde se ha hecho una elevada inversión.
2. Los animales que sobreviven a la enfermedad quedan como portadores sanos, infectando a animales susceptibles, además estos animales tienen retraso en su crecimiento y engorda por esto hay una inversión más alta para la salida al mercado.
3. Este retraso de los animales sobrevivientes a la enfermedad provoca una alta densidad de animales en los corrales de finalización provocando la transmisión del microorganismo.
4. Los gastos por concepto de tratamiento, bacterinas y diagnóstico se incrementan.
5. La mano de obra se ve disminuida en otra áreas por brindar más atención a los animales enfermos (34).

1.2 Descripción de la enfermedad

La PPC, tiene tres presentaciones, hiperaguda, aguda y crónica, la pleuroneumonía aguda esta asociada a una gran mortalidad (7,17); al inicio del brote se observa en animales de todas las edades pero a medida que pasa el tiempo y aumenta la inmunidad de la pira, la enfermedad se limita a animales de finalización; a diferencia de otras bacterias de localización respiratoria (7).

APP es una bacteria que compete exitosamente con otros microorganismos en la producción de enfermedades respiratorias, la severidad de esta enfermedad esta relacionada con el estado inmunológico de los animales (25). Se manifiesta en daños muy severos a nivel respiratorio y en casos agudos causa la muerte en 24-48 hrs., y en casos crónicos persiste la infección (9).

Está bacteria tiene varios serotipos capsulares distintos y aunque hay inmunidad cruzada en el caso de infección y recuperación. Al vacunar existe poca protección cruzada, debido ha esto es indispensable el conocer los serotipos predominantes en el país y en la explotación (17,9).

1.2.1 *Sinonimias.*

La pleuroneumonía contagiosa porcina (PPC) es producida por *Actinobacillus pleuropneumoniae*_porcino (APP), tiene varias sinonimias como son, pleuroneumonía contagiosa del cerdo, actinobacilosis porcina, pleuroneumonía enzootica del cerdo, neumonía hemorrágica sobreaguda del cerdo.(3.)

1.2.2 *Definición.*

La PPC es de etiología bacteriana, con presentaciones clínicas variables (hiperaguda, aguda y crónica), altamente contagiosa con evolución rápida (7,9,13); caracterizada por causar una neumonía fibrino hemorrágica necrosante, infartos en lóbulos diafragmáticos y adherencias en pleuras (3,22,15,4).

1.2.3 *Transmisión.*

La principal vía de diseminación es aerógena (vía directa), también se transmite por contacto directo de un animal portador (con infección crónica), a otro animal susceptible. Otra forma de transmisión es por exudado nasal impregnado en ropa o calzado (17,34). Se ha demostrado que esta bacteria es muy sensible al medio ambiente, pero cuando esta protegida por capas de moco, resiste más tiempo (3).

1.2.4 *Historia de la enfermedad*

Los primeros reportes de la enfermedad se dieron en los años de los 60's, en Gran Bretaña, California y Argentina.

- En 1963 Olander realizó el primer aislamiento del agente etiológico en USA.
- En 1964 Shopen catalogó al agente como *Haemophilus pleuropneumoniae*
- En 1976 Pijoan realizó los primeros aislamientos en México.

En 1983 Phol hizo una reclasificación del agente etiológico dentro del genero *Actinobacillus*, basándose en estudios de genética bacteriana (estudios de hibridación de DNA (17).

2. *Agente etiológico.*

La PPC es una enfermedad devastadora, produce en los cerdos susceptibles una alta mortalidad y pérdidas económicas severas, debido a la pobre conversión alimenticia en los animales infectados crónicamente. La enfermedad puede variar desde curso hiperagudo, agudo y crónico. La lesión de la forma aguda se caracteriza por producir, neumonía hemorrágica necrosante, asociada a una pleuritis fibrinosa y la forma crónica se caracteriza

por tejido pulmonar consolidado, infartado y encapsulado.(3, 7,9,13.). Esta enfermedad esta ampliamente distribuida en muchos países (9,7,15).

2.1 Características morfológicas.

Actinobacillus pleuropneumoniae, es un bacilo pleomorfo Gram negativo ,encapsulado, con actividad hemolítica posee fimbrias de citoadherencia , anaerobia facultativa y mide 0.5 a 1.5 um de largo por 0.3 a 0.4 um ancho (3,9,7). Es una bacteria que carece de flagelos (inmóvil), no produce esporas (7,29).

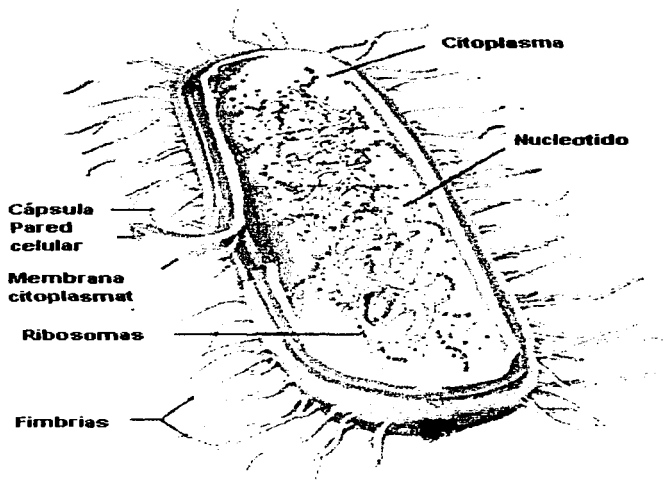


Figura 1. Esquema de una bacteria gram (-) donde muestran sus estructuras

Figura 2 . Mostrando tinción de Gram de *Actinobacillus pleuropneumoniae*, Bacilos Gram (-) en Improntas de pulmón infectado, con un aumento de 40X (32).

2.2 Propiedades Morfológicas.

Existen 2 biovariedades de *Actinobacillus pleuropneumoniae*, que se clasifican dependiendo del requerimiento de NAD (Nicotin-adenin-dinucleotido), para su crecimiento; siendo el biotipo 1 NAD(+) y el biotipo 2 NAD (-). Una característica fundamental de este microorganismo (BIOTIPO 1) es depender de NAD, este es un factor de crecimiento conocido como factor V (7,9,30,31,32,4).

Este factor V se lo proporcionan *in situ*, otros microorganismos denominados cepas nodrizas entre estos microorganismos están, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus albus*, *Streptococcus faecalis*, especies del género *Bacillus* y *Pseudomonas*, colocando una estria sobre el cultivo sospechoso de *Actinobacillus pleuropneumoniae* ,dicho fenómeno se conoce como satelitismo (7, 30, 31, 32).

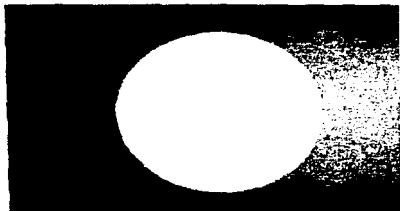
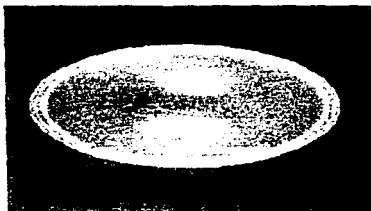


Figura 3 y 4. Fenómeno satelitismo de *Actinobacillus pleuropneumoniae* sobre medio con factor V (32).

Para su identificación se realizan pruebas de ureasa y de fermentación de carbohidratos siendo positivas a ambas.(7,3,30,31,32,4.). Prueba de hemólisis en agar sangre (+).(7,30,31,32). Las principales actividades bioquímicas de *A. pleuropneumoniae* quedan reflejadas en la Tabla 1 (30,31).

Otras especies de los géneros *Haemophilus* y *Actinobacillus*, adaptadas al cerdo, también requieren el factor V, como *Haemophilus parasuis*, *Actinobacillus indolicus*, *Actinobacillus porcini* y *Actinobacillus minor*. Por ello la caracterización se define completamente mediante reacciones bioquímicas y otras. Destaca la presencia de potentes actividades ureasa, β -galactosidasa y fosfatasa alcalina Tabla (1), así como su capacidad hemolítica, que se puede exaltar sobre ágar sangre de bovino u ovino por la acción sinérgica de la β -toxina de una cepa de *Staphylococcus aureus* (efecto CAMP) Fir (3). Igualmente reduce los nitritos a nitritos, produce SH₂ y ácido a partir de diversos azúcares; por su parte, algunas de las cepas poseen actividades catalasa y oxidasa. En la tabla 2, se resumen estos datos y su relación con la diferenciación de especies próximas.

TABLA 2. DETERMINACIONES PRINCIPALES Y DIFERENCIACIÓN METABÓLICA ENTRE A. PLEUROPNEUMONIAE Y ESPECIES PRÓXIMAS.

Carácter/actividad	<i>A. pleuropneumoniae</i>	<i>A. suis</i>	<i>A. indolicus</i>	<i>A. porcini</i>	<i>A. minor</i>	Taxón C	<i>H. parasuis</i>	<i>P. multocida</i>
Acido de glucosa	+	-	-	-	-	-	-	-
Acido de manitol	+	-	-	-	-	-	-	(+)
Acido de ribosa	+	-	-	-	-	-	-	V
Acido de xilosa	+	+	-	-	-	-	-	-
Acido de lactosa	D	+	-	-	+	-	-	(-)
Ureasa	+	+	-	-	-	-	-	-
β -galactosidasa	+	-	-	-	-	-	-	-
Fosfatasa alcalina	+	-	-	-	-	-	-	-
Nitritos	+	+	-	-	-	-	+	-
SH ₂	+	+	-	-	-	-	+	-
Hemolisis	+	+	-	-	-	-	-	-
CAMP	+	-	-	-	-	-	-	-
V-dependencia	+	-	+	+	+	+	+	-
X-dependencia	-	-	-	-	-	-	-	-
Catalasa	-	-	+	-	-	-	+	-
Producción de Indol	-	-	+	-	-	-	-	-

Tabla 2. Se muestran las diferencias metabólicas de *A. Pleuropneumoniae*, con especies próximas, destacándose las potentes actividades de ureasa, β galactosidasa y fosfatasa alcalina y la actividad hemolítica de APP (32).

Se han identificado 12 serotipos de APP. Los serotipos 1, 5a, 5b, 9, 10 y 11 tienen actividad hemolítica, mientras que los serotipos, 2, 3, 4, 6, 7, 8 y 12 no tienen actividad hemolítica (17).

La especificidad de los serotipos esta dada por los polisacáridos capsulares y lipopolisacáridos celulares. Sin embargo algunos serotipos muestran cierta inmunidad cruzada , como ocurre con las serovariedades 1 con la 9 y la 11 (3,33).

3. Factores de virulencia

El APP, posee un numero significativo de factores de virulencia que contribuyen a las propiedades patógenas de este microorganismo (3,7,17.).

Cápsula. La cápsula es la responsable de la especificidad del sérotipo.(17,7.). La cápsula, es la capa externa de la membrana bacteriana (34). Fig (4). Las propiedades biológicas de la cápsula: son las siguientes inertes, no tiene actividad tóxica ni pirógena. (7.) La cápsula protege a la bacteria de la fagocitosis (actividad antifagocítica) por neutrofilos, PMN (8,17,9) y se asume que es el principal escudo protector frente a las defensas humorales del cerdo (30,31,32). La cápsula aunque es opsonizada por los anticuerpos interfiere con la actividad del complemento hacia la membrana.(7,30,31,32).

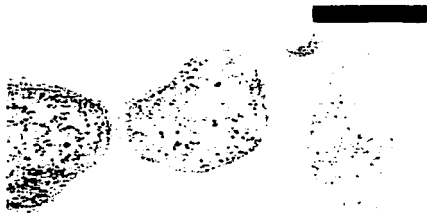


Fig 6. Microfotografía electrónica de *A. pleuropneumoniae*, donde se muestra una cápsula bien desarrollada. Serotipo 5 (32).

Los anticuerpos producidos contra la cápsula sólo protegen al animal de la muerte pero no contra las lesiones pulmonares (13). La virulencia atribuida a la cápsula es variable entre los diferentes sérotipos de APP.(24).

3.2 Lipopolisacaridos y proteínas de membrana externa (OMP). Las bacterias Gram negativas, se caracterizan por presentar un complejo trilaminar, de estas la membrana externa cápsulay lipopolisacaridos endotóxicos (LPS) y proteínas ambas en la misma proporción (3).

3.2.1 Los Lipopolisacaridos (LPS) incluye un lipido A formado por ácidos grasos, grupos fosfato y glucosa. El polisacárido O está integrado por un núcleo de ácido 3-desoxi-D-manoctulosónico, glucosa y heptosa, y cadenas laterales que varían en longitud y estructura según el serotipo. Según el núcleo se han diferenciado dos tipos, I y II; el primero está presente en los serotipos 1, 6, 9 y 11 y el II en el resto (17,24). Las cadenas laterales incluyen repeticiones de un tetrasacárido ramificado, idéntico en los serotipos 1 y 11, y ligeramente diferente en el serotipo 9 (7,17). Las de los serotipos 2,

3, 6 y 8 está formada por unidades repetidas de pentasacáridos lineales, que son iguales en los serotipos 3 y 8, y muy similares a ellos en el serotipo 6. En los serotipos 4 y 7 también se observa esa sucesión de tetrasacáridos ramificados repetidos, con diferencias mínimas, mientras que en los serotipos 5 y 10 consta de la repetición de unidades de monosacáridos diferentes y, por último, la del serotipo 12, es un trisacárido ramificado (1,2,3,4,5,6,7,8). En *A. pleuropneumoniae* se han descrito cepas lisas (en los serotipos 2, 4 y 7), semirrugosas (serotipos 1 y 5) y rugosas (en los serotipos 3 y 6), condicionadas a la presencia completa, parcial o ausencia de las cadenas laterales O (30,31,32).

Los LPS posee propiedades biológicas similares al de otras bacterias Gram negativas, aunque no ha podido demostrarse su relación con las lesiones típicas. Intraqueralmente produce lesiones diferentes y no se observa ni necrosis, ni hemorragias generalizadas, admitiéndose que en la enfermedad natural, actúa sinérgicamente con las Apx (30,31,32). El LPS de *A. pleuropneumoniae* permite la adherencia al mucus y a los anillos traqueales (los anticuerpos anti-LPS inhiben la adherencia -132-), desempeñando un papel fundamental en la colonización respiratoria (12,24,30). El LPS representa, también, un mecanismo alternativo de adquisición de hierro *in vivo*, a través de su unión a la hemoglobina porcina (12,17,7).

3.2.2 Las proteínas de la membrana externa (OMP). Los anticuerpos frente a las OMP actúan como opsoninas en la fagocitosis por PMN (polimorfos nucleares), lo que sugiere su participación en la virulencia; algunas OMP, además, parece que inducen anticuerpos protectores. En este grupo de proteínas se incluyen los receptores para transferrina (30,32). La mayor parte del hierro, que necesitan las bacterias, forma complejos orgánicos con la transferrina, lactoferrina, etc. En estas condiciones, el APP ha desarrollado un mecanismo de captación que utiliza receptores protéicos de superficie denominados TbpA y TbpB que están codificados por dos genes, en un operón y dispuestos en tándem. La proteína TbpA, codificada por el gen *tbpA*, posee un tamaño de entre 90 y 110 kDa, mientras que la TbpB, que está codificada por el gen *tbpB*, tiene un tamaño de entre 80 y 90 kDa (29,54,55). En los últimos años se han descrito otras proteínas, codificadas por los genes *tonB*, *exbB* y *exbD*, que forman el complejo TonB, probablemente con la misma función mediante sideróforos. En el APP, *exbB* y *exbD* están situados en el mismo operón que los *tbp*, y su contribución es indispensable para el funcionamiento correcto de las proteínas Tbp.

El receptor específico para la transferrina porcina permite comprender dos aspectos fundamentales del poder patógeno de APP, por un lado, esta unión explica la especificidad de hospedador y por otro, se satisfacen plenamente los requerimientos nutricionales del microorganismo *in vivo*, donde la disponibilidad del hierro es una limitante para su crecimiento. Un fallo en este sistema de captación limitaría la multiplicación *in vivo* (30,31,32).

3.3 Exotóxicas.

Las exotóxicas de APP produce tres exotoxinas RTX (Repeat of toxin), (denominadas, en este caso, Apx I a III), que se caracterizan por la presencia en la molécula de una serie de repeticiones de nonapéptidos ricos en glicina. Su secreción se produce después del reconocimiento de una secuencia señal situada en el extremo C-terminal y siempre el gen

estructural codifica una proteína inactiva, que se modifica posteriormente. El operón único que codifica la síntesis, activación y transporte de las toxinas RTX está compuesto por cuatro genes contiguos dispuestos en el orden C, A, B y D (30,31,32). Su actividad tóxica es sobre diferentes células como los linfocitos, macrófagos alveolares porcinos (PAM), pero particularmente sobre glóbulos rojos, o por su actividad anterior se denominaban hemolisinas o citolisinas (7).

Funcionalmente son porinas, producen poros en las membranas celulares principalmente de macrófagos y neutrófilos provocándoles la muerte (30,31). Por esto la actividad citotóxica y hemolítica de *Actinobacillus pleuropneumoniae* es atribuida por lo menos a estas tres proteínas tóxicas, estas toxinas pertenecen a la familia de tóxicas denominadas RTX, se han identificado tres tipos diferentes de estas ahora conocidas como Apx (operones):

1. Rtx 1 (Citolisina) : hoy conocido como ApxI.
2. Rtx 2 (Citolisina 2) : hoy conocida como Apx II
3. Rtx 3 (Citolisina 3) : hoy conocida como Apx III.(7)

Los diferentes sérotipos de *Actinobacillus pleuropneumoniae*, solo pueden secretar 1 o 2 toxinas. Apx I, es altamente hemolítica y citotóxica para macrófagos alveolares porcinos (PAM), es una proteína con un peso molecular de 105 a 110 kDa (30,31,32,7,13,17,28). La proteína Apx-IA contiene 13 repeticiones, que son capaces de unir Ca^{++} , indispensable para la actividad hemolítica y la unión a los neutrófilos (30,31,32), es producida por los serotipos 1, 9, 5, 10 y 11, la expresión de esta tóxina es inducida por el calcio. La Apx II es pobremente hemolítica y pobremente citotóxica para PAM y neutrófilos, su masa molecular es de 103 a 105 kDa (28,13,17,30,31,32,7), esta es producida por todos los serotipos excepto el serotipo 10. La proteína Apx-IIA, posee 8 repeticiones (30,31), y es muy similar a la leucotoxina I.ktA de *Mycoplasma hyaemolytica* (30,31,32,7,17). La Apx III, no es hemolítica pero es altamente citotóxica para PAM y neutrófilos, está codificada por un operón apx III C A B D intacto, su masa molecular es de 130 kDa (30,31,32,17,7,28), es producida por los serotipos 2, 3, 4, 6 y 8 (6,17,30,31). La proteína Apx-IIIa posee 13 repeticiones y se ha denominado pleurotoxina debido a la inducción de pleuritis. Las tres toxinas Apx producen una reacción CAMP positiva, más intensa en el caso de la Apx-III, a pesar de carecer de actividad hemolítica. (30,31,32,8). La siguiente tabla muestra en resumen la producción de las toxinas por los diferentes serotipos de APP.(32).

Tabla 3. Resumen de la producción de toxinas por los serotipos de *A. pleuropneumoniae*.

Serotipos	Apx I	Apx II	Apx III
1, 5 a, 5b, 9 y 11	+	+	
2, 3*, 4, 6 y 8		+	+
7 y 12		+	
10	+		

Tabla 3. Donde se muestran las diferentes toxinas producidas por cada serotipo, en la cual se destaca que ningún serotipo es capaz de producir los 3 tipos de toxinas (32).

Las Apx de APP son factores de virulencia muy importantes, que se responsabilizan del daño en los tejidos y del desarrollo de las lesiones necrótico-hemorrágicas características (6,7), aunque también intervienen citocinas del hospedador, por ejemplo, en la infección experimental con el serotipo 1, se incrementa fuertemente la producción de IL-1, 6 y 8 (9). Las citocinas inducidas por las toxinas (Apx1) pueden mediar un aumento de la permeabilidad en el tejido pulmonar, lo que provoca una mayor susceptibilidad de este tejido a la acción nociva de las toxinas. Las citocinas potencian el efecto dañino de las toxinas (7). Otro aspecto es la citotoxicidad contra PAM y PMN, que disminuye las defensas en el aparato respiratorio, facilitando la invasión. Además, esta citotoxicidad de las Apx produce la degeneración de los PAM, aunque se ha señalado una cierta capacidad de supervivencia, tanto en macrófagos como en neutrófilos, que sugiere la existencia de un mecanismo que permitiría el escape del fagosoma, se ha especulado sobre una posible participación de las toxinas Apx en esta función. Así pues, parece claro que las toxinas Apx son capaces de producir lesiones pulmonares y contribuyen a la invasión mediante sus propiedades antifagocíticas. En cualquier caso, existe una fuerte correlación entre la presencia de Apx-1 y la virulencia, de forma que aquellos serotipos que la producen (1, 5, 9, 10 y 11) son los que con mayor frecuencia están implicados en brotes de alta mortalidad. Los serotipos implicados con frecuencia muestran una mayor potencia citotóxica, por una producción mayor de toxinas y de otros factores entre los que cabe contar la disponibilidad de hemoglobina, procedente de la lisis de los glóbulos rojos, utilizable como fuente adicional de hierro. En este sentido, el serotipo 3 de APP, que suele ser considerado el menos virulento, es el único que no secreta cantidades significativas de ninguna toxina hemolítica Apx. También se ha sugerido que las Apx afectan a los linfocitos T, alterando la respuesta inmune y favoreciendo la cronicidad del proceso. En cualquier caso se considera que todas las Apx originan daño pulmonar y contribuyen a la invasión de los órganos blanco mediante sus propiedades antifagocíticas. Como todas las cepas producen y secretan al menos una Apx la enfermedad es indistinguible desde el punto de vista clínico, independientemente del serotipo implicado, aunque sí se observa una intensidad o virulencia diferentes. (30,31,32,8).

3.4 Fimbrias citoadherentes.

Estas fimbrias son factores de adhesión para esta bacteria; las cuales son estructuras proteicas extracelulares, que tienen la capacidad de interactuar con receptores específicos de las células del huésped iniciándose de este modo el proceso de colonización microorganismo (30,31,32,8,3,7).

Son también denominadas adhesinas, se cree que el cerdo posee receptores específicos hacia el factor de adherencia de esta bacteria, por esto la alta especificidad de especie de APP hacia el cerdo (7).

3.5 Proteasa de secreción.

Esta tiene la capacidad de degradar a las IgA de las mucosas y a la hemoglobina. Esta proteasa de secreción también es capaz de desnaturalizar las proteínas del parenquima pulmonar y con esto aumentando el grado de adhesión y colonización del microorganismo (7,3,30,8).

3.6 Superóxido dismutasa.

Las SOD (superóxidodismutasas) son metaloenzimas implicadas en la defensa celular frente al daño oxidativo e incluyen 3 tipos dependientes de sus cofactores: de Mn, de Fe y de Cu/Zn (Mn-SOD, Fe-SOD y Cu/Zn-SOD). En el APP, el gen sodC, codifica una Cu/Zn-SOD que ya ha sido identificada, clonada y secuenciada. Se localiza en el periplasma del microorganismo y facilita la supervivencia bacteriana local eliminando al superóxido generado por las células inflamatorias.

Por lo tanto por la superóxido dismutasa del APP, tiene un mecanismo protector frente a los aniones superóxido producido por las células inflamatorias, permitiendo la supervivencia bacteriana en el fagosoma, al eliminar los radicales libres de oxígeno (8,30,31,32). En la tabla 4 se resumen los factores de virulencia y su función en la patogénesis de APP.

Tabla 4. Factores de virulencia de *A. pleuropneumoniae* y sus funciones en la patogénesis.

Factores APP	<ul style="list-style-type: none"> - producción de toxinas pulmonares - adhesión con las células del animal - adhesión de las células de epitelios pulmonares - adhesión hemática - adhesión endotelial - adhesión del estafilococo oportunista en células epiteliales
Epigobiosarritido	<ul style="list-style-type: none"> - adhesión sinérgica a la célula epitelial en la pleuroneumonía pulmonar - factor de adhesión - adhesión de la adhesión del estafilococo oportunista por las epiteliales para el epigobiosarritido - adhesión de epigobiosarritido - epigobiosarritido
Capsetis	<ul style="list-style-type: none"> - protección frente a la actividad bactericida del suero
Proteínas de la membrana externa	<ul style="list-style-type: none"> - adhesión y especificidad de unión con las células - adhesión de epitelios y adherencia de la epitelial de la epitelial
Fimbrias	<ul style="list-style-type: none"> - factor de adhesión
El magnetotaxón	<ul style="list-style-type: none"> - factor de adhesión
Proteínas	<ul style="list-style-type: none"> - degradación de proteínas del hospedador
Proteína Hbc	<ul style="list-style-type: none"> - regulador para la síntesis de toxinas
Superóxido dismutasa	<ul style="list-style-type: none"> - protección frente a los radicales libres de oxígeno

Tabla 4. Se muestran los diferentes factores de virulencia de APP y sus diferentes funciones en la patogénesis en la pleuroneumonía contagiosa porcina (31).

4. Distribución geográfica.

Esta enfermedad tiene una distribución mundial afectando a la mayoría de las poblaciones productoras de cerdos.

4.1 Distribución regional.

En México la PPC esta distribuida en muchos estados como se muestra en la siguiente tabla (34).

Estado.	Serotipo identificado.
Jalisco.	1,2,8,9
Michoacán.	1,2,8,9
Guanajuato.	1,2,3,4,7,10,11
Puebla.	1,2,3,4,6,7,10,12
Edo. de México.	1,2,3,4,7,10,12
Sonora.	1,2,3,4,7,10,12
Querétaro.	1,2,3,4,5,6,7,10,12
Yucatán.	1,2,3,5,6,10,12
D.F.	1,3,2,4,7,10,12

Tabla 6. Distribución de los diferentes serotipos de APP, en la Republica Mexicana (34).

4.2 Distribución mundial.

La PPC, causada por *Actinobacillus pleuropneumoniae*, tiene una distribución mundial (7,2,14), y causa severas mermas económicas en los países criadores de cerdos, la distribución geográfica de los diferentes serotipos se muestran en la tabla 5 (9,4,17,33).

Pafs.	Serotipos prevalentes	Serotipos dominantes
Argentina.	1,2,3,5,12	1
Australia.	1,2,3,7,12	1
Bélgica.	2,3,6,7,8,9,11	3
Brasil.	1,3,4,5,7,9	5,3
Canadá.	1,2,3,5,6,7,8,10	5,7,1,12
Chile.	1,5	1,5
Croacia.	2,7,8,9	2,9
Checoslovaquia.	1,2,7	2
Dinamarca.	1,2,3,5,6,7,8,10,11,12	2
Francia.	2,3,7,8,9	9
Alemania.	2,3,4,5,6,7,9,10	9,2,7
Hungría.	1,2,3,5,6,7,9,10,11,12	3,2,7
Italia.	1,2,3,4,5,7	5
Irlanda.	3	3
Japón.	1,2,3,5,6,7,8,9,12	1,2
Corea.	2,3,5,7	5,2
México.	1,2,3,4,5,6,7,8,9	1,8
Holanda.	1,2,3,5,7,8,9,11	2,9,11
Polonia.	1,2,5,9	1,9
España.	1,2,3,4,5,6,7,8,9,10,12	4,7,2
USA.	1,3,5,7,8,9	1,5
Venezuela.	1,7,4,2,3,6	1

Tabla 5. Donde se muestran los diferentes serotipos distribuidos en cada país alrededor del mundo (17, 33).

Actinobacillus pleuropneumoniae, es una bacteria que tiene varios serotipos y aunque existe inmunidad cruzada en casos de infección y recuperación natural, al vacunar existe poca protección cruzada; debido a esto es indispensable conocer los serotipos predominantes en el país (3). Entre los serotipos más patógenos se encuentran los 1, 5, 9, 10, y 11 por su alta capacidad citolítica y hemolítica (30,31,32).

5. Factores predisponentes.

La persistencia de APP en cerdos depende de un número de factores incluyendo el estado inmune de los cerdos. Por esto los factores causantes de una inmunosupresión son los factores más importantes para la presentación de la pleuroneumonía (9,3). Se ha reportado una interacción entre el virus de la enfermedad de Aujeszky y el APP. La infección viral es un factor inmunosupresor que favorece la presentación del cuadro hiperagudo de la enfermedad (3). Otro factor que está relacionado con la inmunosupresión de los cerdos es el estrés, este parece íntimamente ligado con los brotes agudos de la pleuroneumonía (3,9); por lo tanto los factores del estrés juegan un papel importante en la presentación de APP, entre estos tenemos, cambios bruscos de temperatura, manejos estresantes, transporte y las épocas frías durante el año (9). Otros factores son: asociación con otros microorganismos que afectan aparato respiratorio, retención de animales seropositivos que juegan un papel importante en la diseminación del microorganismo, alta humedad, malas condiciones higiénicas tanto de instalaciones como de trabajadores, entrada de transportes sin previa desinfección; esto se resume en una mala bioseguridad (20,9,7).

6. Signos clínicos.

Los signos clínicos varían de acuerdo al estado inmune de los animales, estrés, condiciones ambientales adversas y del grado de exposición al agente infeccioso. El curso clínico de la PPC tiene 3 presentaciones: hiperagudo, agudo y crónico.(3,7,17,9,4) Las dos primeras se dan en explotaciones indemnes, infectadas por primera vez, mientras que la crónica se relaciona con áreas endémicas. (30,31,32).



Figura 7. fotografía de animales afectados por APP, en una explotación porcina (32).

6.1 Presentaciones de la enfermedad.

Esta enfermedad tiene 3 presentaciones clínicas a continuación se presentan los signos, de cada una de las presentaciones de esta enfermedad de tipo respiratorio.

6.1.1 Hiperaguda: Este cuadro inicia con anorexia y apatía, fiebre de 41.5 °C, hay un periodo corto donde se presenta vómito y diarrea ligera, estos síntomas son seguidos de fallas circulatorias como cianosis en piel, abdomen y orejas. Postración respiración por hocico, adoptan una posición descrita como de "perro sentado", que usualmente se acompaña de descargas sanguinolentas por fosas nasales y hocico. En neonatos se presenta una meningitis con signos nerviosos, asociados a un cuadro respiratorio. La muerte ocurre dentro de las 24 a 36 horas, ocasionalmente algunos animales mueren súbitamente; este curso de enfermedad causa una mortalidad del 80 - 100% y una morbilidad del 80% (7,17,30,31,32,3).

6.1.2 Aguda: inicia con una fiebre de 40 - 41 °C, tos húmeda, disnea, resistencia a moverse, anorexia, depresión, extensión y rigidez de cuello y cabeza dirigiéndolas hacia el frente, hocico semiabierto (respiración por hocico), letargia, dificultades respiratorias evidentes, puede ocurrir fallas circulatorias, como son cianosis en orejas y extremidades, vómito ocasional. Esta forma aguda puede ocasionar la muerte o la recuperación, la muerte se caracteriza por presentar hemorragia nasal, esta puede ocurrir de uno a cuatro días o bien se da la recuperación espontánea. Esta forma provoca una mortalidad del 10 - 30 % y una morbilidad del 80% (7,17,30,31,32,3).

6.1.3 Crónica: La forma crónica a menudo persiste en animales que sobreviven a la forma aguda de la enfermedad, los cerdos que sufren esta forma crónica de pleuroneumonía presentan signos subclínicos. Lo que se puede observar, poca o nula fiebre, tos húmeda crónica que varía de intensidad, pérdida de apetito y baja en la ganancia de peso diaria (7,17,30,31,32,3).

Estos animales con la forma crónica de la enfermedad quedan como portadores sanos; otras enfermedades respiratorias o factores de estrés pueden desencadenar o incrementar los síntomas de la pleuroneumonía crónica (17,31,32,3), también se pueden observar abortos principalmente en el último tercio de la gestación (9).

6.2 Lesiones macroscópicas.

Las lesiones causadas por APP son generalmente restringidas a el aparato respiratorio; caracterizada principalmente por una pleuroneumonía fibrinohemorrágica con necrosis coagulativa. También ha sido reportada la presencia de fluido serosanguinolento en cavidad pericárdica (9,26,21,17).



Figuras 8 y 9. Mostrando lesiones necrótico-hemorrágicas del pulmón características de APP (32).

Las lesiones más obvias ocurren en cavidad torácica y consisten en neumonía y pleuritis, usualmente las lesiones neumónicas son en el lóbulo caudal pero pueden también ocurrir en el lóbulo craneal y mediano. El septo interlobular se encuentra edematoso y engrosado, en algunos casos se observan amplias bandas de hemorragias cercanas a áreas de necrosis debajo de la pleura y el septo interlobular. Los nodos linfáticos bronquiales y mediastínicos están agrandados y edematosos.

En la luz de la tráquea se encuentra líquido sanguinolento. En casos muy crónicos se observan extensas adherencias fibrinosas de pleura que son demarcadas por áreas irregulares de necrosis y se observan numerosos infartos de varios tamaños en los pulmones. (9,26,30,32,7,17).

Las lesiones también pueden ser descritas en varios otros órganos; pericarditis, con adherencias a el pericardio, infartos renales, se aumenta la cantidad de fluido peritoneal conteniendo bandas fibrinosas. (9,30,31,32,17.)

Estas lesiones se caracterizan según la fase de la infección; en las infecciones agudas y hiperagudas, se encuentran zonas neumónicas, necrosis y hemorragias, delimitadas por tejido pulmonar normal. Los lóbulos pulmonares afectados son los diafragmáticos en su porción dorsal. Las lesiones son de color rojo oscuro, de aspecto sanguinolento y friables. Se encuentran asociados a pleuritis fibrinosa. Las lesiones crónicas se caracterizan por consolidación de tejido pulmonar, zonas infartadas, encapsuladas y tejido de cicatrización, con secuestros necróticos, rodeados por fibrosis en los septos interlobulares adyacentes. (34,7,17,30,31.)



Figura 10. Fase aguda-hiperaguda de la pleuropneumonia Contagiosa porcina, corte de pulmón mostrando intensa hemorragia necrótica.



Figura 11. fase hiperaguda de la pleuropneumonia mostrando fibrina y adherencia.

6.3 Lesiones histopatológicas.

Microscópicamente, en la forma sobreaguda, se observa congestión, trombosis, hemorragia y edema; además, hay exudación de fibrina hacia los septos interalveolares y alveolos, en los que pueden verse neumocitos descamados y células inflamatorias (34,30,31,7.). Los septos interlobulillares están muy engrosados, con linfangiectasis y edema (9). En la mucosa de las vías respiratorias, además de congestión, edema y hemorragia, suele producirse degeneración vacuolar del epitelio y un infiltrado inflamatorio en el tejido conjuntivo subepitelial (34).

En la forma aguda, las áreas neumónicas presentan focos de necrosis por coagulación, rodeados por células inflamatorias (linfocitos, macrófagos y células plasmáticas); igualmente, se observa fibrina, glóbulos rojos y neumocitos en la luz de los alveolos (9,21). Los septos interalveolares se encuentran engrosados y es frecuente la trombosis vascular. En la evolución a la forma crónica, desde la periferia de las áreas de necrosis progresa un tejido de granulación que es responsable del encapsulamiento y los secuestros, en los que quedan acantonadas bacterias (21,30,34,25,32).

7. Prevención, control y tratamiento.

Estos métodos pueden ser empleados para la prevención el control y tratamiento en contra de la pleuroneumonía contagiosa porcina.

- Algunos de los propietarios pueden elegir vivir con los síntomas subclínicos, (animales portadores sanos), esto con las cepas menos virulentas de APP; esto

reduce los riesgos del comienzo agudo que puede ocurrir en los animales libres de APP.

- Realizar pruebas serológicas para detectar a los animales seropositivos.
- Eliminación de estos animales seropositivos.
- Sistema de producción todo dentro todo fuera asociada a un programa de desinfección.
- Mejorar condiciones higiénicas y de instalaciones en la granja.
- Evitar el máximo estrés a los animales, esto para evitar la inmunosupresión de los animales ya que este es uno de los factores más importantes para la presentación de la enfermedad.
- La despoblación al inicio de la enfermedad, es una alternativa muy radical pero es el único método efectivo como tratamiento; este consiste en la remoción total de animales de la granja y realizar una repoblación con animales libres de la enfermedad (17).

Para el control y el tratamiento de la pleuroneumonía existen una variedad de antibióticos entre los cuales están, las penicilinas, estreptomomicina, tiamulina, spectomicina, kitasamicina; quinolonas de primera generación como, ácido nalidixico, ácido oxolinico; fluoroquinolonas como ciprofloxacina y enrofloxacin (7,19).

Los resultados de sensibilidad antibiótica han demostrado que el 90% de APP son sensibles a penicilina, ceftiofur, cefalotina, enrofloxacin y tiamulina (19,23).

Los tratamientos parenterales han mostrado ser los más efectivos en los brotes de la enfermedad, sin embargo el costo de los mismos es muy alto (7). La elección apropiada del antibiótico, correcto, el tratamiento de los casos clínicos tempranos y el separar a los animales enfermos al inicio de los brotes reducirá la mortalidad (23,30).

Los cerdos que sufren una infección de APP, consumen poca agua y alimento, por esto la adición de antibióticos al alimento y al agua es de poco valor, ya que es muy difícil dar una dosis terapéutica adecuada para que el microorganismo pueda ser eliminado (7,23,19). La vacunación o utilización de bacterinas, se utilizan con frecuencia como un método para prevenir la mortalidad en las piaras infectadas, pero se sabe que diversas vacunas comerciales disponibles proporcionan títulos serológicos que varían después de la inoculación, y que ninguna proporciona una protección completa (23).

8. Sinergismo de APP con otros microorganismos.

APP, es un patógeno que actúa sinérgicamente con muchos microorganismos, entre los cuales se encuentran, virus y micoplasma, (microorganismos causantes de inmunosupresión

y que están involucrados con problemas respiratorios), entre estos están: *Mycoplasma hyoneumoniae*, PRRS, Aujeszky, Circovirus, Influenza, *Haemophilus parasuis*, *Pasteurella multocida*, *Streptococcus suis* (25,3,18). Los agentes etiológicos suelen clasificarse en primarios y secundarios, esto según su repercusión, los agentes primarios son capaces de inducir la enfermedad por sí mismos, dando como consecuencia una inmunosupresión y con esto además propician las patologías desencadenadas por los patógenos secundarios. Siendo patógenos primarios; Aujeszky, PRRS, Circovirus, *Mycoplasma hyoneumoniae*, entre otros; y siendo patógenos secundarios; APP, *Haemophilus parasuis*, *Pasteurella multocida*, *Streptococcus suis*, entre otros (25,18,27). A la asociación de estos microorganismos se le conoce como complejo, y esta dada por la interacción entre estos agentes, y por la interacción entre estos y el sistema inmune del cerdo; no hay patología individual sino patología de población (25).

Ahora hablaremos un poco de estos patógenos primarios, causantes de la inmunosupresión que favorecen la aparición de los patógenos secundarios, como es APP.

- Enfermedad de Aujeszky; enfermedad producida por un Herpesvirus, tras la infección el virus se replica en el tracto respiratorio y se difunde a otros órganos. Produce una neumonía intersticial y con esto facilita el asentamiento de neumonías secundarias, es un agente que reduce la actividad de los macrofagos, siendo uno de los factores más importantes para la aparición de la pleuroneumonía (25).
- PRRS, síndrome reproductivo y respiratorio porcino, es una infección vírica (Arterivirus), que presenta una sintomatología multisistémica a un que en este caso se considerara como enfermedad respiratoria (25,27). El virus se multiplica en macrófagos, por lo que puede ver favorecida su replicación en un entorno rico en anticuerpos específicos, en procesos enzoóticos cursa con síntomas respiratorios en el cerdo que podríamos definir como un tipo de gripe y que se acompaña con una fuerte inmunosupresión que facilita la presentación de las enfermedades secundarias (25,27)
- Circovirus, el síndrome del adelgazamiento postdestete, es causada por el Circovirus porcino tipo 2, no es estrictamente una enfermedad respiratoria, sino un síndrome inmunosupresor con esto ayuda al asentamiento de patógenos secundarios (25).
- Neumonía enzoótica, causada por *Mycoplasma hyoneumoniae*, produce una neumonía subclínica que ocasiona escasos signos, pero causa ineficiencia productiva y pérdidas económicas. El germen se adhiere a las células ciliadas, la lesión del sistema mucociliar favorece la aparición de infecciones secundarias patógenas superficiales como APP; las lesiones de la neumonía intersticial se dan en los lóbulos apicales, se da mayormente en el pulmón derecho por su distribución bronquial (25).

Otras complicaciones tales como, endocarditis, pericarditis y artritis serosa pueden ocasionalmente ocurrir como una secuela a pleuroneumonía, existen reportes de

osteomielitis y artritis asociadas con la infección de APP serotipo 2. La osteomielitis es bien conocida en los cerdos, por ejemplo es una secuela de asociación e infecciones hematógenas. Bacterias tales como *Actinomyces pyogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus haemolytica*, y streptococosis están más comúnmente asociadas con estas lesiones. Además una gran variedad de bacterias incluyendo a APP pueden recientemente ser asociadas con otitis media, estas lesiones han sido demostradas in situ. (15.).

9. Diagnostico y tipificación de *Actinobacillus pleuroneumoniae*.

El diagnostico definitivo de la PPC, debe de ser oportuno y rápido y es esencial identificar los diferentes serotipos prevalentes en el país, para así elaborar los biológicos adecuados para el diagnostico y la inmunización de los animales. En el diagnostico de la PPC se aplican diversos métodos, sin embargo sólo uno o dos de ellos confirman la enfermedad y el serotipo presente (7).

9.1 Clínico.

Observación de los signos clínicos en el cerdo y en los de la zahúrda; este método no esconfiable ya que sólo los signos clínicos se presentan en los cursos agudos de la enfermedad, mientras que los casos crónicos pasan inadvertidos (7).

9.2 Morfológico.

Observación de las lesiones a la necropsia, de los animales muertos o durante la inspección en los centros de abasto de los casos crónicos. Para el estudio patológico se requiere de los servicios de un médico veterinario especialista en patología (7).

9.3 Aislamiento.

Aislamiento e tipificación del APP de los pulmones de los cerdos con problemas agudos o bien crónicos, esto tarda de 48 – 72 hrs., contar con un laboratorio de bacteriología y personal calificado (7).

9.3.1 Cultivos. Crece bien en agar chocolate, agar PPLO y agar sangre pero es necesario suplementarlos con un 0.025% de NAD. El ágar chocolate posiblemente es la fórmula de uso más frecuente. Se suplementa con NAD, complejos vitamínicos y minerales y, si es preciso con fines selectivos, algunos antibióticos (bacitracina o combinada con cloxacilina o lincomicina), antimicrobianos no antibióticos (cristal violeta, etc.) y antifúngicos (nistatina). A pesar de estas medidas en este medio, como en otros, aún pueden crecer otros patógenos respiratorios porcinos. Las colonias, al cabo de 48 horas, son pequeñas (entre 1 y 2 mm), redondas, opacas y de color gris.

Entre ellas se pueden diferenciar dos tipos: unas, de aspecto céreo, que se adhieren al asa de siembra y presentan sobre el medio una cierta elevación redondeada, y otras de aspecto brillante, más aplanadas.

El agar PPLO enriquecido con extracto fresco de levadura al 10%, suero de caballo al 5%, glucosa al 0.1% y NAD al 0.025%, permite crecimientos precoces incluso al cabo de 6 horas con una cápsula bien desarrollada, cuya presencia produce iridiscencia característica cuando las placas se observan a la luz solar (mejor oblicua):

El medio PPLO es uno de los preferidos para la tipificación y preparación de antígenos. Del mismo modo, se consiguen buenos crecimientos, en un tiempo similar, en un caldo PPLO, con los mismos ingredientes que su variante sólida (7, 31, 32).

El agar sangre contiene, un 5% de sangre desfibrinada. Es un medio adecuado que se utiliza con una estria nodriza de especies productoras de factor V, con las que satelitizan, como es el caso de *Staphylococcus aureus* o *S. intermedius*. La aparición, a las 18 horas, de colonias pequeñas, con un halo de hemólisis más o menos evidente en función del origen de la sangre (de mejor a peor, bovino, ovino, humano, conejo, gallina y equino), únicamente en torno a la fuente de aporte del factor V, nos aproximará a la identificación de la bacteria, aunque la ausencia de hemólisis clara no es excluyente (30,31,32).



Fig. 12 Cultivos de *A. pleuropneumoniae* en medios sólidos. 2A: colonias en agar chocolate. 2B: colonias en agar PPLO enriquecido con NAD; 2C: satelitismo en agar sangre. 2D. Efecto CAMP; 2E: colonias hemolíticas en agar sangre (30).

9.4. Diagnóstico serológico.

Que se lleva a cabo en los cerdos vivos de las granjas. El método serológico es el más adecuado ya que puede realizarse en los animales vivos con o sin signos clínicos, no requiere de sacrificio de cerdos y es más rápido y nos permite hacer perfiles de la enfermedad, identificando el punto de infección en la granja.

Para el diagnóstico de la PCP, podemos mencionar las siguientes pruebas: fijación del complemento, ELISA, Aglutinación y coaglutinación, Aglutinación en latex, Inmunofluorescencia indirecta, Precipitación en gel o inmunodifusión, Hemoaglutinación indirecta y NEUMOTES esta último desarrollado en México es una prueba de campo rápida y sencilla antes conocida como PLEUROTÉS. (7,17,33).

Respecto de la técnica utilizada en la tipificación, hay que dejar constancia de la elevadísima cantidad de métodos utilizados para la tipificación, lo que indica la inexistencia de un sistema óptimo, sin inconvenientes, representados principalmente por las reacciones cruzadas aludidas antes (32).

9.4.1. Fijación del complemento. Originalmente fue concebida como un método de detección de especie transformado, después, en una prueba de detección específica del serotipo. El ensayo se basa en la obtención de antígenos específicos para cada uno de los 12 serotipos, que se hacen reaccionar frente al suero problema. Los antígenos se preparan por sonicación de una suspensión de bacterias, recogiendo el sobrenadante. Además de los antígenos de APP, se requiere la presencia de complemento, suero bovino fetal y el suero problema, que se incuban durante la noche para la fijación del complemento. En la mañana siguiente se añaden los glóbulos rojos. La lisis de éstos, por la acción del complemento y el suero bovino, indica el resultado de la prueba. Si el suero porcino contiene anticuerpos específicos de serotipo frente al antígeno, interaccionarán con él y se unirán al complemento. Esto agotará el complemento presente y evitará la lisis de los glóbulos rojos en el sistema de reacción. Por lo tanto, existirá una relación inversa entre la presencia de anticuerpos frente a APP y el lisado de las células rojas. La fijación del complemento tiene una sensibilidad del 90.6% y una especificidad del 98.7 %; por esto es inmunológicamente más específica que la prueba de hemaglutinación indirecta, porque es capaz de distinguir entre APP y *Haemophilus parvus* sin embargo, su validez para el serotipado es cuestionada; además, la frecuencia de falsos negativos es alta. La realización de esta prueba es, por otro lado, un proceso laborioso y complejo, que requiere un elevado grado de estandarización para su éxito y con inconvenientes técnicos que lo complican (31,10,17).

9.4.2. ELISA (Enzyme-linked Immunosorbent Assay). El uso del ELISA en el serotipado de APP se propuso inicialmente por Nicolet *et al.*, como alternativa a la fijación del complemento. Todos los intentos posteriores de optimizar los métodos ELISA se han centrado en la purificación de un antígeno específico de serotipo, lo que no ha sido posible hasta la fecha. Primero se adaptaron los protocolos con el serotipo 5, que no presentó dificultades porque tanto los polisacáridos capsulares, como el LPS y las proteínas de la membrana externa resultaron ser antígenos específicos de ese serotipo. Recientemente también se han descrito como antígenos específicos de este serotipo los LPS de cadena larga. En la actualidad, se dispone de sistemas basados en monoclonales específicos de antígenos del serotipo 5 (31,17).

Tras el serotipo 5 se abordó el 1, pero en este caso los resultados no han sido tan alentadores. Los polisacáridos capsulares del serotipo 1 reaccionaron cruzadamente con antisueros de los serotipos 9 y 11, al igual que ocurre con los LPS de cadena larga de la membrana. Esta reacción cruzada entre los serotipos 1, 9 y 11 fue demostrada también por Rodríguez Barbosa *et al.* mediante la producción de anticuerpos monoclonales, que señalaron la presencia de epitopos comunes en el LPS. Igualmente se han demostrado repetidamente las reacciones cruzadas entre los serotipos 4, 7 y *A. ligusteresi*. El análisis de cepas muestra que, con frecuencia, se clasifican erróneamente las cepas en un serotipo determinado en función del tipo de ELISA utilizado. Así, si el ELISA detecta al antígeno capsular, se puede clasificar en un serotipo diferente al que correspondería si el ELISA se

basara en la reacción del LPS. Esto se ha demostrado con frecuencia en los serotipos 1, 4 y 7, y se ha propuesto la utilización del inmunoblot para atenuar estos efectos adversos (31,17). Por lo anterior esta prueba tiene una sensibilidad del 99.7% y una especificidad del 90.6%.

El ELISA de bloqueo surgió como alternativa al ELISA tradicional. Se trata de un sistema de competición para la detección del anticuerpo que se ha empleado con éxito para la detección del serotipo 8 y del 2. Aunque en ninguno de estos casos se apreciaron reacciones cruzadas, el problema con estos ELISAs fue que no detectaban a todas las cepas. Esta pérdida de sensibilidad es característica de los ensayos basados en anticuerpos monoclonales (31,17). Recientemente se han descrito diversos métodos ELISA con especificidad de especie para APP, dirigidos a las proteínas Apx. El procedimiento más conocido utiliza la proteína recombinante ApxII, pero tiene el inconveniente de que esta toxina no está presente en las cepas de los serotipos 3 y 10. Una alternativa posible es la detección simultánea y múltiple de las tres toxinas Apx. En este caso el ELISA sí que permite detectar a cepas de los 12 serotipos, pero no discriminar entre ellos. Por otro lado, las investigaciones más recientes han demostrado la presencia de análogos de las toxinas Apx en diversas especies bacterianas de interés veterinario. Esto se traduce en diversas reacciones cruzadas entre APP y estas otras especies, inhabilitando a las toxinas Apx como antígeno diagnóstico (31,17).

9.4.3 Aglutinación y coaglutinación. Son métodos simples, rápidos o lentos, para la identificación y serotipado de cepas de APP. Existen tres variantes útiles: la aglutinación lenta en tubo, la aglutinación en tubo con 2-mercaptoetanol, y la aglutinación rápida en porta objetos. Los antisueros utilizados se producen mediante la inmunización de conejos con cada uno de los serotipos, siguiendo protocolos convencionales. Con el antisuero obtenido se practican diluciones seriadas, que se mezclan con el antígeno a partes iguales. El resultado de la aglutinación se determina por inspección visual. A diferencia de otros sistemas, la aglutinación rápida evita muchas reacciones cruzadas, aunque posee el inconveniente de que no permite la clasificación de serotipos rugosos, que son autoaglutinantes, especialmente el 3 y 6 y, en ocasiones, 1 y 5. Este inconveniente es salvado mediante la coaglutinación. Para su desarrollo se requiere una cepa bacteriana capaz de sintetizar grandes cantidades de proteína A, como es el caso de la cepa Cowan de *S. aureus*, que se une a la región constante (Fc) de las IgG de los sueros hiperinmunes, quedando libres las regiones variables (Fab), dispuestas para reaccionar con el posible antígeno específico de la cepa. Sin embargo, tampoco este método es completamente válido, porque no diferencia el serotipo 3 de los serotipos 6 y 8. Pese a no tener la misma sensibilidad que la hemaglutinación indirecta, la coaglutinación es, en la actualidad, el método rápido de elección para serotipar cepas, aunque para una clasificación precisa y definitiva aún se recurre a la hemaglutinación indirecta (31,17).

9.4.4 Aglutinación en látex. Se describió, inicialmente, para la identificación de los serotipos 1, 2, 3, 5 y 9 (24). Al principio generaba múltiples reacciones cruzadas pero modificaciones en la técnica ensayadas con los serotipos 1 y 5, han permitido eliminar estos inconvenientes. Es un procedimiento laborioso y complejo (30,31,32,17).

9.4.5 Inmunofluorescencia indirecta. En 1981, Rosendal *et al.*, aplicaron esta metodología a la identificación y serotipado de APP. Es un procedimiento rápido y fácil de realizar, pero presenta numerosos inconvenientes. Se han detectado reacciones cruzadas del serotipo 6 con todos los demás, así como entre los serotipos 4 y 7 y los serotipos 4 y 5. Además, el método no detecta el serotipo 1 y, por encima de todo, la sensibilidad y especificidad son muy bajas (30,31,32,17).

9.4.6 Precipitación en gel o inmunodifusión. Se basa en la difusión de los antígenos y anticuerpos en un gel de agar, con la consiguiente precipitación visible cuando ambos forman complejos. El método posee las ventajas de su sencillez, de que puede ser utilizado tanto para la detección de antígenos como de anticuerpos y que permite la identificación y el serotipado. El inconveniente es su lentitud, ya que requiere un periodo de incubación prolongado. Además resulta difícil la interpretación de las bandas de precipitación (31,17).

9.4.7 Hemaglutinación indirecta. Se trata de otra prueba que también detecta anticuerpos en el suero y que se ha utilizado durante muchos años como método de detección bacteriana. Primero Nielsen y luego Mittal, utilizaron y perfeccionaron el método general de Herbert para su aplicación en *A. pleuropneumoniae*, detectando anticuerpos específicos de serotipo. La técnica comienza con la suspensión de las células bacterianas en solución salina durante la noche, centrifugando después y recogiendo el sobrenadante. El extracto salino obtenido se incubaba una hora en presencia de glóbulos rojos de oveja, para que los antígenos bacterianos se adsorban a la superficie de las células. Una vez preparadas, se tapizan con ellas las placas de microtitulación y en los pocillos se añaden diluciones seriadas del suero. Las reacciones positivas se manifiestan como un sedimento plano y las negativas como un botón en el centro del pocillo. El título de hemaglutinación es el recíproco a la dilución más alta del suero que resultó positiva a la reacción. Nielsen ha demostrado que existe reacción cruzada entre los serotipos 6 y 8, aunque distingue entre los serotipos 4 y 7, lo que otros métodos no consiguen. También se puede diferenciar entre los serotipos 9 y 11, mientras que en el grupo del 3, 6 y 8 pueden discriminarse los dos primeros. Sin embargo, se presentan reacciones cruzadas con *H. parasuis*, por lo cual la técnica es claramente cuestionable. En cualquier caso, la hemaglutinación indirecta es la técnica la preferida por la mayoría, por su sensibilidad y especificidad (31,30,17).

Algunos de estos métodos se basan en la detección de anticuerpos contra cada uno de los serotipos presentes en los cerdos, con el fin de determinar el status inmune de la granja y diferenciar aquellos cerdos que fueron vacunados de los infectados. El diagnóstico de la PPC en países como México y en los demás de Latinoamérica, se limita sólo a eso, al diagnóstico, y no a la evaluación del status inmune de la granja y prevención y control de la enfermedad, en México se desarrolló una innovación tecnológica denominada PLEUROTTEST (7).

9.4.8 PLEUROTTEST: es un kit de diagnóstico serológico de la PPC, hoy conocido como NEUMOTEST, consiste en un método rápido que no requiere de un equipo de laboratorio, se realiza en unos cuantos minutos y sólo se requiere de unos pocos mililitros de suero del animal a estudiar, este kit nos ayuda a distinguir directamente en la propia

granja si un cerdo ha sido infectado con APP de campo y por lo tanto es portador de la PPC o si el cerdo está sano o no vacunado contra la PPC. El PLEUROTTEST tiene una sensibilidad del 86 % y una especificidad del 97%; está prueba se basa en el principio de aglutinación directa (aglutinación en placa), es un equipo diseñado para detectar anticuerpos producidos por los cerdos enfermos de PPC, el suero del cerdo ha diagnosticar es mezclado apropiadamente con el reactivo que contiene células tratadas de APP: en el caso de los cerdos infectados con PPC, su suero contiene anticuerpos específicos que reaccionan con los antígenos presentes en el reactivo produciendo una aglutinación caracterizada por la aparición de grumos en la mezcla, indicando un resultado positivo, si se trata de cerdos sanos el suero no contiene anticuerpos contra APP, y si se trata de un cerdo vacunado contra APP, el suero contiene otra clase de anticuerpos que no reaccionan con el reactivo y por lo tanto en ambos casos la aglutinación no se produce y no se observan grumos, indicando un resultado negativo (7).

9.5 Métodos basados en estudios de ácidos nucleicos.

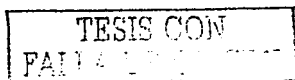
Estos son los más utilizados en la actualidad por su alta especificidad y alta sensibilidad.

9.5.1 PCR (Reacción en cadena de la polimerasa.)

Métodos basados en el estudio de los ácidos nucleicos. PCR. La PCR (reacción en cadena de la polimerasa), este método tiene una sensibilidad del 98% y una especificidad del 100%, por lo tanto constituye uno de los avances más importantes de la Biomedicina de este siglo, y su aplicación ha revolucionado el Diagnóstico Microbiológico y la Genética. Es una reacción que utiliza ADN polimerasa y oligonucleótidos para amplificar fragmentos de ADN. Consta de tres pasos fundamentales: 1) desnaturalización, 2) hibridación de los cebadores y 3) extensión. Las hebras del ADN_{bc} se separan cerca de los 100°C y cada cebador se fija a la hebra correspondiente cuando se baja la temperatura hasta un valor conveniente, que depende de su composición. La extensión de las cadenas se produce a una temperatura de 70°C. El proceso se repite 20-40 veces y en cada ciclo, en teoría, se duplica el número de copias de la hebra inicial. La eficiencia oscila entre 62-85%. Las eficiencias más bajas se producen en los últimos ciclos. La temperatura de hibridación influye en la especificidad; temperaturas inferiores a la óptima puede generar productos secundarios, debidos a la hibridación inespecífica mientras que temperaturas altas impiden la estabilización del híbrido. El Mg²⁺ es un cofactor de la polimerasa y, por tanto, esencial, influyendo tanto en la especificidad como en la cantidad de producto generado. Su concentración debe ajustarse para cada reacción. La PCR se caracteriza por su gran sensibilidad y poder de amplificación, lo que puede facilitar contaminaciones accidentales, por lo que deben adoptarse precauciones especiales, como el uso de controles negativos y una separación de las áreas del trabajo previo y posterior. La contaminación cruzada por las pipetas es otro factor evitable (31,17).

9.5.2 Tipificación por estudios de hibridación.

Tipificación por estudios de hibridación: La hibridación de los ácidos nucleicos fue una de las primeras técnicas de ADN utilizadas. La técnica requiere la digestión del ADN bacteriano, la separación de los fragmentos obtenidos en un gel de agarosa, la transferencia



de esos fragmentos a una membrana y, finalmente, la detección de los fragmentos de interés, mediante una hibridación con una sonda marcada. Su aplicación a la epidemiología molecular procede de la observación de que se generaban diversos perfiles cuando se utilizaban sondas de determinados genes que presentan cierta variabilidad en una población bacteriana. Las sondas se dirigen bien a genes estructurales o de virulencia o a los genes del ARNr 16S ó 23S, a lo que se denomina ribotipado. En la actualidad la compleja restricción del ADN con la posterior hibridación de la sonda pueden ser sustituidos por una simple amplificación PCR de la zona de interés, con posterior restricción enzimática (31,17).

10. Vacunación.

Se ha venido insistiendo repetidamente que la vacunación es un recurso importante y la disponibilidad de una vacuna eficaz contribuirá decisivamente al control de la enfermedad. A lo largo de los últimos años se han experimentado gran diversidad de combinaciones, entre las que las toxinas Apx, han centrado la mayor atención. Muchos de estos productos proporcionan altos niveles de anticuerpos en los animales vacunados, que sobreviven a la infección. Pese a todo, en la práctica aún se carece de un producto que proteja frente a la enfermedad aguda y prevenga la condición de portador crónico y eliminador de APP(30). Las vacunas inactivadas son preparaciones del microorganismo completo, inactivadas por calor o formol, que incorporan el serotipo predominante en la explotación o en una región, por lo que es preciso su conocimiento previo. Se han utilizado, por lo general, cultivos de 6, 12 o 24 h, admitiéndose que los más jóvenes proporcionan los mejores resultados (antígenos capsulares). Se puede afirmar que todos los serotipos, o al menos los de mayor incidencia clínica (especialmente los 1, 2 y 3), han sido utilizados. La concentración oscila en 109-1010 UFC/ml y en la inactivación, el procedimiento más común es el uso de formaldehído al 0,2% a temperatura ambiente durante 18 h ó a 60°C durante 2 h. Estos productos se mezclan con distinto tipo de adyuvantes, entre los que se cuentan AIOH, adyuvante incompleto de Freund, mezclas de aceite de cacahuete, Arlcel 80 y Tween 80 ó aceites o mezclas como Drakeol 6VR con Arlcel 80, Drakeol 6VR con Arlcel 80 y Tween 80, ó Marcol 52 con Span85 y Tween 85. Al adyuvante incompleto de Freund se le responsabiliza de la formación de granulomas locales, que representan un importante problema, razón que ha motivado numerosos estudios para elegir la fórmula oleosa menos problemática. Un adyuvante a base de aceite de cacahuete (Lipovant) resulta menos irritante, originando tan solo una pequeña reacción tisular en algunos individuos. Con el propósito de reducir los efectos irritantes, se han propuesto también vías de inoculación diferentes a las tradicionales (intramuscular o subcutánea), como es el caso de la intraperitoneal, que según se afirma permite mejorar la protección y disminuir el número de reacciones secundarias (30).

La mayoría de los protocolos de inmunización con estos productos aconsejan administrar una primera dosis a las 9 semanas de edad, o coincidiendo con la entrada de los animales en la explotación, y al menos una repetición 2-3 semanas después. Como se ha señalado, el inconveniente de la protección homóloga, obliga a incorporar más de un serotipo en el mismo producto inmunizante, en forma de vacunas bivalentes o multivalentes, por ejemplo, mezclas de los serotipos 1 y 5; 2 y 5; 1 y 7; 2, 7 y 9; 4 y 2, etc., e incluso en forma de bacterinas mixtas con otros patógenos respiratorios. Este tipo de vacunas proporcionan alguna resistencia específica de serotipo, suelen reducir la gravedad de la enfermedad y especialmente la mortalidad, pero no resuelven ni la persistencia de lesiones ni la presencia

de portadores. Además, proporcionan niveles de protección experimentales que no se corresponden fielmente con las condiciones de campo lo que obliga a planificar programas a largo plazo, con los consiguientes inconvenientes económicos. Se han utilizado diversos tipos de extractos, como sobrenadantes de cultivos en caldo de 4 ó de 26 h, concentrados por ultrafiltración al 10:1, precipitados con polietilenglicol o con cetavión (precipita la cápsula), dializados y filtrados, mezclados después con un adyuvante, etc.,. Por lo general solamente consiguieron reducir la mortalidad o reducir el número y gravedad de las lesiones, pero el porcentaje de aislamiento fue muy alto siempre. En los últimos años se ha experimentado mucho acerca de vacunas atenuadas. La CM5 es una cepa del serotipo 1 que ha sido utilizada en experimentos de protección, en los que ha inducido inmunidad frente a la cápsula, el LPS y la Apx-I, sobreviviendo todos los animales inmunizados, aunque con lesiones variables después del desafío la cepa salvaje. La BES es también una cepa de baja virulencia del serotipo 1, que fue obtenida de forma natural y cuya infección no origina enfermedad, produciendo inmunidad sólida frente a cualquier serotipo, señalándose descensos en la mortalidad y lesiones, aunque sin la posibilidad de controlar la infección como en casos anteriores (30).

Otras alternativas a base de mutantes incluyen cepas acapsuladas de los serotipos 1 y 5, obtenidas por mutagénesis química que, según sus autores, los animales inmunizados experimentalmente desarrollan una fuerte respuesta tanto frente a las células enteras como a las toxinas ApxI y II, que les permitió resistir el desafío intratraqueal tanto del serotipo homólogo como del heterólogo sugiriendo su posible uso vacunal. También se ha trabajado sobre mutantes auxotróficos de riboflavina, aunque sin resultados concluyentes.

Muchos antígenos de superficie de APP inducen una respuesta que se detecta en el suero. Estos componentes pueden incorporarse como subunidades a preparados vacunales. A este respecto, el núcleo del LPS de *E. coli* J5 ha sido utilizado para inducir inmunidad cruzada frente a APP, apreciándose un descenso significativo de la mortalidad, aunque sin cambios significativos en el desarrollo de lesiones. También se ha utilizado el LPS del serotipo 1 detoxificado y como adyuvante un aceite mineral con resultados protectores, aunque peores a los de una bacterina, lo que sugiere la intervención de anticuerpos que interfieren con las primeras fases de la colonización (30).

Rapp y Ross examinaron la inmunogenicidad de algunas OMP del serotipo 5, identificando anticuerpos en el suero de los convalécientes. Vacunaron cerdos con una OMP de una cepa del serotipo 5, con AIOH o con adyuvante incompleto, obteniendo un descenso significativo en el número de casos de neumonía respecto de los controles, después de la infección intranasal con la cepa homóloga, la eficacia de la vacuna fue cuanto menos comparable a la de bacterinas de células.

La capsula no parece desempeñar en solitario una función importante en la inducción de protección, pues es poco inmunógena. Experimentalmente, se han estudiado en ratón mezclas de componentes capsulares obtenidos de sobrenadantes de cultivos de 6 h de los serotipos 5 y 7, precipitados con cetavión y completados con un adyuvante oleoso, observando los efectos de la infección con 10 DL50 del serotipo correspondiente. Todos los ratones inmunizados intraperitonealmente sobrevivieron a la infección con el serotipo homólogo, pero no con el heterólogo, igual que ocurrió en la inmunización pasiva (30).

Se han demostrado en convalécientes de la enfermedad natural o experimental anticuerpos neutralizantes frente a distintas Apx. Se ha descrito el uso vacunal de Apx-I recombinante y Apx-II purificada del serotipo 7 (Ike *et al.*, 1996), adyuvantadas con un gel de AIOH en experimentos de protección en ratón, con resultados protectores frente a algunos serotipos,

pero no frente a otros. También se ha utilizado (Tarasiuk *et al.*, 1996) un sobrenadante crudo de cultivo del serotipo 1, con Apx-I, solo o mezclado células inactivadas, con adyuvante oleoso, que produjo los títulos más altos. En la actualidad se comercializa una vacuna de subunidades con tres toxoides de Apx-I, Apx-II y Apx-III y una OMP con adyuvante oleoso. Se han descrito buenos resultados comparados con los controles (menos lesiones, menos tratamientos en la explotación, ligeras mejoras en la producción y al sacrificio, disminución del número de brotes agudos y crónicos, así como de la mortalidad) (30).

Los datos anteriores sugieren que las proteínas son necesarias para conseguir una respuesta protectora significativa en la que también participan los LPS. En esta idea se estudió una vacuna de oligosacáridos de la pared conjugados con un toxoide tetánico con buenos resultados, que mejoraron con la conjugación con una proteína portadora. Sobre los resultados de la inmunización con Apx y con OMP purificadas Van den Bosch *et al.* desarrollaron una vacuna conjugada que combinaba, Apx-I de los serotipos 1 ó 5b con OMP del serotipo 1, con un adyuvante tipo emulsión agua-aceite. En todos los casos se obtuvieron excelentes resultados en lo que a la mortalidad se refiere, pero no así respecto del desarrollo de lesiones. La mezcla de polisacárido capsular con Apx ó su conjugación con LPS fue estudiada por Byrd y Kadis, observando un aumento significativo del título de anticuerpos y aunque se observaron importantes descensos en la mortalidad y en la presencia de lesiones, el producto no resolvió satisfactoriamente el control de la enfermedad (30).

Rossi-Campos *et al.* utilizaron dos antígenos recombinantes del serotipo 7, que incluían el extremo C-terminal de la Apx-II y una Tbp de 60 kDa. Todos los animales desarrollaron una fuerte respuesta humoral, con menor mortalidad y lesiones que los controles, pero la protección fue específica de serotipo. Utrera *et al.* han ensayado un preparado de antígenos de células enteras y un toxoide Apx-I, con el que han obtenido una importante reducción de la mortalidad de los animales vacunados. Por último, se ha descrito también una vacuna de antígenos asociados a células recombinantes y antígenos secretados, entre ellos, proteínas Tbp y Apx-II, con los que se han descrito resultados de protección aceptables frente a la inoculación endobronquial del serotipo 9 (30).

10.1 Productos comerciales en México.

En México se utilizan los siguientes productos comerciales en contra de la PPC.

Vacunas simple.

Nombre comercial	Formula	Vía de administración
<i>Actinobac. HALVET.</i>	Cultivos inactivados de APP Serotipos I, II, V y VII · Adyuvante.	I.M.
<i>Suvaxy Respifend APP SOLVAY.</i>	Cultivos inactivados de APP Serotipos 1, 5 y 7 · Adyuvante.	I.M.

Tabla 7. Aquí se muestran las vacunas simples utilizadas en contra de APP en México, destacándose los serotipos 1, 5, 7 por ser los de mayor incidencia en México (3).

Vacunas mixtas.

<i>Nombre comercial.</i>	<i>Formula.</i>	<i>Vía de administración</i>
<i>Bacterina triple porcina BIIP Caldo, PECUARIUS.</i>	<i>Cultivos inactivados de: <u>Bordetella b.</u> <u>Pasteurella m. A y D.</u> <u>APP serotipos 1 y 5.</u> <u>+ Al(OH)₃</u></i>	<i>LM</i>
<i>Haemo-shield P. PIER.</i>	<i>Cultivos inactivados de: <u>APP serotipos 1,5 y 7.</u> <u>Pasteurella m. A y D.</u></i>	<i>LM</i>

Tabla 8 En esta tabla se muestran las vacunas mixtas en contra de APP en México, destacándose su combinación con Pasteurella multocida, A Y D por ser un agente inmunosupresor el cual puede favorecer la entrada de APP (3).

11. Respuesta inmune contra *Actinobacillus pleuroneumoniae*.

11.1 Penetración.

En la respuesta del hospedador se incluyen barreras inespecíficas, como los sinusoides de las vías respiratorias altas, el epitelio respiratorio, las secreciones mucosas y el movimiento ciliar. Los sinusoides y cilios eliminan las partículas suspendidas en el aire inspirado, una vez atrapadas por el moco que tapiza los conductos, pero las partículas de entre 1 y 3 mm pueden alcanzar los bronquiolos y los alveolos pulmonares, que son los puntos más vulnerables. Al estornudar, los cerdos enfermos producen aerosoles que se deshidratan rápidamente, pero si llegan a ser inspirados por un animal próximo, se rehidratan alcanzando un tamaño adecuado para llegar a la parte más profunda e infectar al cerdo (30).

11.2 Colonización.

El APP presenta 2 mecanismos de adhesión muy efectivos y que son específicos para esta especie, inicia su adhesión y por lo tanto su colonización en el pulmón porcino. Estos 2 mecanismos de adhesión tan efectivos son la fimbrias de citoadherencia y la molécula lipido A uno de los tres componentes que constituye al LPS de esta bacteria (7,3,30,24,31). Los pilis citoadherentes, que contiene el microorganismo, sólo se expresan en el epitelio de la mucosa respiratoria de los cerdos, ya que este epitelio contiene una gran cantidad receptores específicos (proteínas) (7) , para estas fimbrias.

En cuanto a la molécula lipido A de los LPS sucede lo mismo, al ser la mayor adhecina de esta bacteria le permite adherirse tanto a los anillos traqueales como a las células del

epitelio de la mucosa respiratoria de los cerdos ya que en estos sitios existen una gran cantidad de receptores específicos para estas moléculas, los receptores más identificados son proteínas contenidas en traquea y parenquima pulmonar (24).

Estos 2 receptores específicos tanto para las fimbrias como para las moléculas lípido A son los que dan la especificidad de especie y además contribuyen muy eficazmente a la capacidad invasiva de esta bacteria, desempeñando un papel fundamental en la colonización del pulmón porcino.

11.3 Lipopolisacaridos (LPS).

A pesar de que APP posee una cápsula de aproximadamente 85 – 220 nm de grosor, los LPS pueden atravesar esta gruesa capa y ser accesibles o expuestos por este microorganismo encapsulado. Este LPS es el mayor mecanismo de adhesión de esta bacteria esto lo da en particular la molécula lípido A uno de los 3 componentes de los LPS, al ser la mayor adhesina de esta bacteria le permite adherirse tanto a los anillos traqueales como a las células del epitelio de la mucosa respiratoria de los cerdos ya que en estos sitios existen una gran cantidad de receptores específicos para estas moléculas (24). Esta observación se confirma porque los anticuerpos anti-LPS inhiben la adherencia (30,31). El LPS representa, también, un mecanismo alternativo de adquisición de hierro *in vivo*, a través de su unión a la hemoglobina porcina con esto la bacteria obtiene el hierro necesario tanto para su sobrevivencia como para su multiplicación (31). Durante la multiplicación bacteriana se liberan LPS (11).

Los LPS liberados durante la multiplicación de las cepas virulentas son reconocidos por los CD14 de MQS y monocitos, con esto se estimulan a estas células para la producción y secreción de citocinas proinflamatorias tales como TNF α , IL-1, IL-6 y IL-8, esta síntesis ocurre a las 2 hrs. postinfección (11,30). Estas citocinas juegan un papel importante en el daño tisular, aumentan la permeabilidad del tejido pulmonar favoreciendo los daños provocados por otros factores de virulencia producidos por esta bacteria (11,30,8). La endotoxina es un componente de la pared bacteriana de los gérmenes gram (-), es uno de los elementos que inicia la sepsis por estimular directamente a los fagocitos monoculares, monocitos y MQS produciendo una variedad de factores bioactivos que incluyen a metabolitos del ácido araquidónico como prostaglandinas (Pgs), leucotrienos (Lts) (fueres activadores y quimiotácticos para los NQS), factor activador de plaquetas y citocinas proinflamatorias TNF α y IL-1(35,8,5). La secreción de TNF α por estímulo de los LPS induce una fuerte quimiotaxis de MQS, NQS y monocitos , aumentando el número de estas células en el tejido pulmonar (en la infección) y al ser las principales productoras de TNF α este se produce en altas concentraciones además de que es el principal mediador de la respuesta inflamatoria en contra de las bacterias gram (-) (5). Las altas concentraciones de TNF α estimula la secreción de citocinas y quimiocinas tales como IL-1, IL-6, y IL-8 (IL-8 es quimiotáctica para los NQS), con esto aumentan las concentraciones de citocinas proinflamatorias y los NQS son las células más abundantes a las 24-48 hrs., pos-exposición a la bacteria, por la acción de la IL-8 y los Lts (8,5). El TNF α aumenta la permeabilidad vascular facilitando la llegada de células y moléculas inmunocompetentes (Ig G y complemento).

Pero las altas concentraciones de citocinas y quimiocinas secretadas como respuesta a los LPS bacterianos producen alteraciones que inclusive pueden ocasionar la muerte de los animales. Del mismo modo las altas concentraciones de TNF α pueden mediar el choque séptico produciendo efectos sistémicos que se traducen en una inadecuada perfusión de órganos, disminución de gasto cardiaco, efectos en los endotelios vasculares (coagulación intravascular diseminada), fiebre, aumento en la síntesis de proteínas de la fase aguda, esto puede llevar a un colapso cardiovascular provocando la muerte del animal (35)

Las altas concentraciones de TNF α e IL-1 induce a nivel hipotálamico la producción de Pg E2 provocando con esto la pirexia y aborto en las hembras gestantes en el último tercio de la gestación este es uno de los signos que se puede observar esporádicamente en esta enfermedad, además también producen anorexia esto por actuar sobre centros nerviosos y la secreción continua de estas citocinas produce caquexia provocando debilidad en los animales por la falta de nutrientes esto asociado a las lesiones contenidas en el pulmón causa la muerte de los animales (35,7)

Los LPS también protegen a la bacteria en contra de la lisis mediada por el complemento, por las IgG específicas, también se les responsabiliza de producir daños en el tejido pulmonar esto actuando sinérgicamente con las toxinas Apx producidas por las bacterias (35,34)

11.4 Fagocitosis.

La proteasa de secreción producida por esta bacteria degrada proteínas del parénquima pulmonar (7,31,30), iniciando un daño en el tejido pulmonar que induce un proceso inflamatorio, además también degrada a las inmunoglobulinas IgA de la mucosa respiratoria (7,29,30), contribuyendo a la capacidad de colonización y adherencia de esta bacteria. Estas proteasas también provocan lisis de eritrocitos obteniendo por este método el hierro, necesario para la sobre vivencia y multiplicación de la bacteria (7,31,30).

A causa de este proceso inflamatorio y por acción del TNF α son atraídos MQS y NQS al foco de infección infección. La fagocitosis de la bacteria por macrófagos y neutrófilos se favorece por la opsonización mediante anticuerpos presentes en el suero de los animales convalécientes y por el fragmento C3b del complemento (30). Al ser fagocitadas las bacterias son destruidas por los mecanismos microbicidas que actúan en el fagolisosoma los cuales pueden ser dependientes o no de oxígeno; los primeros (estallido respiratorio), generan radicales libres de oxígeno sustancias que son muy reactivas.

Los segundos están representados por enzimas lisosómicas, proteínas catiónicas, quelantes de hierro, lisozima y otros (30,17). El APP al ser fagocitado secreta sustancias toxicas, como son las toxinas Apx. Las Apx sirven a la bacteria como un mecanismo de supervivencia en el interior de los macrófagos, ya que son capaces de formar poros en las bicapas fosfolipídicas y pueden intervenir en la ruptura de la membrana del fagosoma, escapando de esta estructura y, por tanto, evitando ha si su digestión intracelular (30).

11.5 Liberación de los radicales libres de oxígeno.

Las dosis bajas de Apx estimulan la producción y liberación de radicales de oxígeno muy reactivos, que participan en el estallido respiratorio, aunque este efecto inicial se sustituye pronto por su supresión, seguramente mediada por la SOD producida por la bacteria.

Sustancia que se localiza en el periplasma del microorganismo y facilita la supervivencia bacteriana local dismutando el superóxido generado por las células inflamatorias, mediante esto la sustancia la bacteria es capaz de transformar los radicales libres y bloquear su acción (31).

De esta forma, el microorganismo combatiría los mecanismos dependientes de oxígeno que tienen lugar en el fagolisosoma (30,32). Al existir una alta infiltración de células inflamatorias, existe una gran liberación de radicales libres de oxígeno estimulado por estas toxinas. La liberación de estos radicales podría participar además en el daño tisular, ya que al ser secretadas se depositan en el tejido pulmonar y causan necrosis del tejido pulmonar en el huésped, y daño en las células endoteliales de vasos sanguíneos, provocando con esto las lesiones necrótico-hemorrágicas características de esta enfermedad.(30)

11.6 Interacción de toxinas Apx con MQS y NQS.

En la patogénesis de la pleuroneumonía, el daño tisular es consecuencia directa de microlesiones en las membranas celulares producidas por las toxinas Apx, las Apx de APP son factores de virulencia muy importantes, que se responsabilizan del daño en los tejidos y del desarrollo de las lesiones necrótico-hemorrágicas características, aunque también intervienen citocinas del hospedador inducidas por ellas; por ejemplo, en la infección experimental con el serotipo 1, se incrementa fuertemente la producción de IL-1, 6 y 8 (9). En su origen, el daño tisular se produciría como consecuencia directa de lesiones en las membranas, o estas podrían contribuir a la capacidad invasiva, considerando la citotoxicidad frente a macrófagos alveolares y neutrófilos Van y Leengoed et al. observaron que APP producía estas sustancias tóxicas (toxinas Apx), que funcionalmente actúan como porinas, para los macrófagos alveolares a las que los neutrófilos(8,7,31) son más resistentes (probablemente porque producen dos veces más superóxido y cuatro veces más H₂O₂) (30). Las altas concentraciones de estas toxinas producen poros en las membranas celulares de estos fagocitos provocándoles la muerte por estallido, por lo que sus contenidos celulares se depositan en el tejido pulmonar provocando daños más severos en el pulmón (5,6). Además, esta citotoxicidad de las Apx produce la degeneración de los macrófagos alveolares, aunque se ha señalado una cierta capacidad de supervivencia, tanto en macrófagos como en neutrófilos, que sugiere la existencia de un mecanismo que permitiría el escape fagoso, pudiéndose especular sobre una posible participación de las toxinas Apx en esta función. Así pues, parece claro que las toxinas Apx son capaces de producir lesiones pulmonares y contribuyen a la invasión mediante sus propiedades antifagocíticas, También se ha sugerido que las Apx afectan a los linfocitos T, alterando la respuesta inmune y favoreciendo la cronicidad del proceso.

En cualquier caso se considera que las Apx originan daño pulmonar y contribuyen a la invasión de los órganos blanco mediante sus propiedades antifagocíticas estas toxinas también provocan lisis de eritrocitos (30,36), siendo este otro mecanismo para que la bacteria obtenga más hierro necesario para su sobre vivencia y multiplicación.

11.7 Interacción con el complemento.

La cascada del complemento a través C5a es también activada mediante el reconocimiento directo de determinadas estructuras de la membrana externa de la bacteria (complejos de

LPS). El fragmento C5a constituye además un péptido proinflamatorio muy potente que estimula la llegada de PNM (polimorfos nucleares) al sitio de la infección, probablemente esto induce una liberación de IL-1, IL-6 y FNT α por parte de los monocitos, esto es una causa de más atracción de neutrófilos y liberación de IL-8 (8) y además la IL-6 la cuál es producida también por células del tejido pulmonar (22), una vez activado el complemento se ha observado que las cepas cápsuladas de APP son resistentes a la lisis mediada por el complemento, en presencia o en ausencia de anticuerpos específicos, mientras que los mutantes acapsulados son sensibles a la lisis por la vía alterna. Udeze y Kadis sugieren que los anticuerpos, aún siendo capaces de opsonizar a la bacteria, no activan el complemento porque éste es utilizado por anticuerpos inespecíficos que reconocen epítopos proteicos de la superficie de la bacteria, lo que hace que el complejo de ataque a la membrana se deposite en un punto no letal de la superficie (30). Ward e Inzana señalan que el complemento está bloqueado por dos mecanismos sinérgicos; por un lado, por la imposibilidad de que el C9 pueda depositarse sobre la superficie de la bacteria, debido a la cápsula y debido al bloqueo ejercido por los anticuerpos específicos frente al LPS (30).



Figura 13. fotomicroscopia electrónica de APP mostrando la cápsula bien desarrollada del serotipo 5 co la cual evita que la fracción C9 del complemento se deposite sobre la superficie de la bacteria.

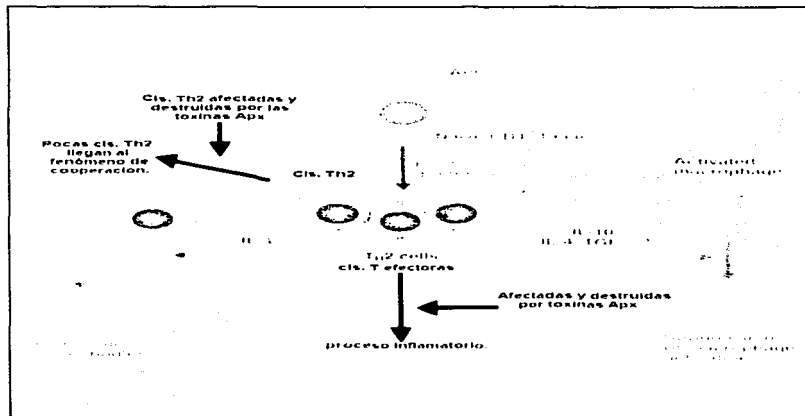


figura 14. En esta figura se muestra el bloqueo ejercido por los anticuerpos específicos frente a LPS evitando la función del complemento

La muerte de los animales provocada por esta enfermedad se da principalmente por una respuesta inmune exacerbada tanto en la alta infiltración de células inflamatorias principalmente MQS (macrófagos) y NQS (neutrófilos) como en las altas concentraciones de citocinas proinflamatorias como son FNT α , IL-1, IL-6 y IL-8 estos factores actúan sinérgicamente con los LPS y toxinas Apx producidos por las bacterias (26,16,5,22).

12. Respuesta Inmune Especifica.

La respuesta protectora en contra de APP se ha observado que esta a cargo de linfocitos Th2, esta se da principalmente por la producción de IL-6 estimulada por los LPS de la bacteria. Esta IL-6 estimula el desarrollo de células Th2, las cuales producen y secretan IL-4 la cual atrae quimiotácticamente a los linfocitos B para llevar a cabo el fenómeno de cooperación; con el cual se estimula a las células B para que proliferen y se diferencien a células plasmáticas y de memoria. Se a observado que las células plasmáticas producen Acs (anticuerpos) hacia los siguientes componentes de la bacteria, en el suero de los animales convalecientes se encontraron anticuerpos frente a la cápsula, el LPS (antígeno O), OMPs y proteínas secretadas. Los anticuerpos frente a la cápsula y antígeno O de algunos serotipos (2, 5, 10 y 12) son específicos. Como el antígeno O de los serotipos 4 y 7; 1, 9 y 11 y 3, 6 y 8 comparte epitopos y es inmunodominante, los anticuerpos reaccionan cruzadamente. Los sueros de los convalecientes reconocen también varias OMPs de 45, 50 y 66 kDa, toxinas Apx y algunos otros antígenos. Los diferentes isotipos secretados en contra de esta bacteria se distribuyen según el tramo del sistema respiratorio que se considere; en la porción alta las secreciones son ricas en IgA, mientras que en el pulmón predomina IgG (30). Lo anterior de da en una respuesta normal no alterada, sin embargo en esta enfermedad se consideran dos mecanismos que actúan sinérgicamente, frustrando esta respuesta. En el siguiente esquema se muestra la interacción de los Linfocitos Th2 con las toxinas de APP, que contribuyen al proceso crónico.



Esquema 1. En el cual se muestra la Interacción de las toxinas de APP en contra de células T efectoras y células Th2, por lo que se ven afectadas la respuesta humoral y celular en contra de esta bacteria (30).

Debido a la destrucción de muchas clonas de linfocitos T ocasionada por las toxinas Apx producidas por estas bacterias, el fenómeno de cooperación entre linfocitos T y linfocitos B no sera adecuado, lo que da como resultado una insuficiente producción de IgG y IgA, en este caso la bacteria escapa a la neutralización por Acs y por ende a la lisis mediada por el complemento. Antes de la afectación y destrucción de las células T, estas son capaces de producir cantidades considerables de IL-10; cuya función principal es la inhibición de los MQS en todas sus funciones (fagocitosis y producción de citocinas), a su vez esta IL-10 inactiva al FNT α e IL-1 disminuyendo así sus altas concentraciones. Como ya se menciona anteriormente la principal causa de las lesiones en el pulmón y la muerte de los animales , es la exacerbada producción de citocinas como FNT α , IL-1, IL-6 e IL-8, las cuales son producidas por los MQS activados; cuando estos son inhibidos por efecto de la IL-10, se disminuyen los daños en el pulmón, lo que evita la muerte del animal.

Los daños ocasionados por las toxinas y otros factores de virulencia de la bacteria son menos importantes, pues se consideran microlesiones, que no ocasionan la muerte del animal.

Un tercer mecanismo que contribuye a al proceso crónico de la enfermedad es el siguiente, Stine *et al.* demostraron que en ratón y en cerdo, se inducen lesiones tíficas principalmente en los linfocitos T de la zona cortical, lo que puede relacionarse con la inhibición del aclaramiento de la bacteria lo que contribuye al estado crónico y del portador. Esta bacteria también afecta órganos linfoides secundarios incluyendo a las tonsilas, donde destruye a los linfocitos T. Esta destrucción de linfocitos T altera la inmunidad inespecífica y promueve la cronicidad (30).

13. Inmunidad pasiva.

La inmunidad pasiva de los lechones, procedente de la madre, incluye inmunoglobulinas del calostro y leche, además de una pequeña producción local. Los niveles de IgG e IgM en el calostro dependen de su transferencia desde la sangre, aunque una pequeña cantidad y las IgA se sintetizan en las mamas de las cerdas (30). Los lechones que toman calostro de madres inmunes, resisten el desafío intranasal, mientras que a los que se les suprime mueren. Por lo tanto los lechones que reciben inmunidad materna a través del calostro y leche , están protegidos las primeras 3-6 semanas (30,17).

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Conclusiones.

Después de realizar la siguiente investigación se llegó a las siguientes conclusiones.

1. La pleuroneumonía contagiosa porcina causada por APP es una de las enfermedades respiratorias más nocivas dentro de una granja por las repercusiones que tiene como son; alta mortalidad, baja en la ganancia diaria de peso, retraso en el crecimiento de los animales y costos en el tratamiento en contra de la enfermedad.
2. Es una bacteria que depende mucho de sus factores de virulencia para sobre vivir en el interior del huésped.
3. La especificidad de especie esta dada por los receptores específicos contenidos en el epitelio del tracto respiratorio porcino tanto para fimbrias citoherentes como para la molécula lípido A de esta bacteria.
4. El principal factor predisponente para la presentación de la enfermedad es la inmunosupresión de los animales ya sea por estrés o por enfermedades inmunosupresoras.
5. Que es esencial identificar los diferentes serotipos prevalentes en el país o en la región para llevar a cabo una buena inmunización y buenos tratamientos.
6. Existen métodos de diagnóstico tanto para la enfermedad como el serotipo presente, debido a la diferencia en la obtención de los antígenos de esta bacteria, aumentando así las reacciones cruzadas.
7. Que la vacunación solo disminuye la mortalidad y no disminuyen las lesiones provocadas por la enfermedad por lo tanto no existe una vacuna que contribuya eficazmente a la prevención de la enfermedad.
8. La muerte provocada por esta enfermedad se da principalmente por la respuesta inmune exacerbada en contra de esta bacteria y no tanto por los factores de virulencia de la misma.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Lista de abreviaturas.

- APP: *Actinobacillus pleuropneumoniae*.
- Apx: Operones.
- CAMP: Fenómeno de Christie; Alkins y Much-Petersen.
- ELISA: Enzyme- Liked Immunosorbent Assay.
- FNT: Factor de necrosis tumoral.
- IL: Interleucinas.
- INF: Interferón.
- Kda: Kilodaltons.
- KDO: Keto-deoxyoctulosonic acid.
- LPS: Lipopolisacaridos.
- LTs: Leucotrienos.
- NAD: Nicotinamida Adenina Dinucleotido.
- NQS: Neutrófilos.
- OMP: proteínas de membrana externa.
- PAM: Macrófagos alveolares porcinos.
- PCP: Pleuroneumonía contagiosa porcina.
- PCR: Reacción en cadena de la polimerasa.
- PG: Prostaglandinas
- PMN: Polimorfo nucleares.
- PRRS: Síndrome reproductivo y respiratorio porcino.
- RTX: Repeat of toxin.

Bibliografía.

1. Blackll Pj. , Bowles R., Pahoff J. I. (1999). Serological characterization of *Actinobacillus pleuropneumoniae* isolated from pigs in 1993 to 1996. *Aust Vet. J. Vol 77, No 1*; 39-43.
2. Bøg Y.S., Andersen O.L., Bastholm L., y otros. (2001). The transferrin receptor of *Actinobacillus pleuropneumoniae*: quantitation of expression and structural characterization using a peptide-specific monoclonal antibody. *Veterinary Microbiology. (81)*; 51-64.
3. Carrera RE. (1995). Inmunización en el cerdo estudio recapitulativo. *UNAM, F. de MVZ*
4. Cheikh K. S. B., Mittal K. R. (1999). Serological characterization of *Actinobacillus pleuropneumoniae* serotype 2 strains by using polyclonal and monoclonal antibodies. *Veterinary Microbiology. 66*; 67-80.
5. Choi C., Kowon D, Min K., and Chae C. (1999). In-situ hybridization for the detection of inflammatory cytokines (IL-1, TNF- α and IL-6) in pig naturally infected with *Actinobacillus pleuropneumoniae*. *J comp. Path. Vol 121*; 349-356.
6. Choi C., Kwon D, Min K., and Chae C. (2001). Detection and localization of Apx I, -II, and -III genes of *Actinobacillus pleuropneumoniae* in natural porcine pleuropneumonia by in situ- hybridization. *Vet. Pathol, 38*; 390-395.
7. Ciprian. (2001). Tercer Ciclo Nacional. Enfermedades respiratorias del cerdo. *Universidad Nacional Autónoma de México FENSC*.
8. Done HS, (2000). The environment, micro-organisms, anatomy and cellular defence of the respiratory tract: An epithelial battle ground. *The 16th international pig veterinary society congress Melbourne Australia. 85-93*.
9. Dubreuil JD, Jacques M, Mittal KR and Gattschalk M. (2000). *Actinobacillus pleuropneumoniae* surface polysaccharides: their role in diagnosis and immunogenicity. *Animal Health Research Reviews 1(2)*; 73-93.
10. Enøe C., Andersen S., Sørensen V., y otros. (2001). Estimation of sensitivity, specificity and predictive values of two serologic tests for the detection of antibodies against *Actinobacillus pleuropneumoniae* serotype 2 in the absence of a reference test (gold standard). *Preventive Veterinary Medicine (51)*; 227-243.
11. Fossum C. (1998). Cytokines as markers for infection and their effect on growth performance and well-being in the pig. *Domestic animal endocrinology. Vol. 15*; 439-444.
12. Furesz SE, Mallard BA, Bosse JT, Rosendal S. (1997). Antibody- and cell-mediated immune responses of *Actinobacillus pleuropneumoniae*- infected and bacterin-vaccinated pigs. *Infection and immunity. 358-320*.
13. Huang H, Potter AA, Campos M. (1998). Pathogenesis of porcine *Actinobacillus pleuropneumoniae*: Part I effects of surface components of *Actinobacillus pleuropneumoniae* in vitro and in vivo. *Can. J Vet. Res. 62*; 93-101.
14. Huang H, Potter AA, Campos M. (1999). Pathogenesis of porcine *Actinobacillus pleuropneumoniae*, part II roles of proinflammatory cytokines. *Can J Vet. Res; 63*; 69-78.

15. Jensen KT, Boye M, Hagedorn-Olsen T, Riising JH, and Angen Q. (1999). *Actinobacillus pleuropneumoniae* osteomyelitis in pigs demonstrated by fluorescent. In situ hybridization. *Vet. Pathol.* 36; 258-261.
16. Johansson E, Fossum C, Fuxler L, Wallgren P. (2001). Effects of an experimental infection with *Actinobacillus pleuropneumoniae* on the interferon α and interleukin-6 producing capacity of porcine peripheral blood mononuclear cell stimulated with bacteria, virus or plasmid DNA. *Veterinary Microbiology*, 79; 171-182
17. Lo MT. (1997). Detection and identification of *Actinobacillus pleuropneumoniae* serotype 5 by multiplex polymerase chain reaction. Thesis submitted to the faculty of the Virginia polytechnic institute and state university in partial fulfillment of the requirements for the degree. 1-112.
18. Loeffen W.L.A., Kamp E.M., Stockhofe-Zurwieden N. y otros. (1999). Survey of infectious agents involved in acute respiratory disease in finishing pigs. *Veterinary Record* (1-5); 123-129.
19. Møller A.F., Jensen E.N. (1999). Susceptibility testing of *Actinobacillus pleuropneumoniae* in Denmark. Evaluation of three different media of MIC-determinations and tablet diffusion tests. *Veterinary Microbiology* (64); 299-305.
20. Maesa D, Chiers K, Haesebrouck F. (2001). Herd, factors associated with the seroprevalences of *Actinobacillus pleuropneumoniae* serovars 2,3 and 9 in slaughter pig from farrow-to-finish pig herds. *Vet. Res* 32; 409-419.
21. Min, K, and Chae, C. (1998). Detection and distribution of DNA of *Actinobacillus pleuropneumoniae* in the lungs of naturally infected pigs by in-situ hybridization. *J. Com. Path. Vol. 119*; 169-175.
22. Morrison DF, Fass DL, and Murtaugh MP.(2000). Interleukin-10 gene therapy-mediated amelioration of bacterial pneumonia. *Infection and immunity*. 4752-4758.
23. Oliver D.(1997). *Actinobacillus pleuropneumoniae*, (Hemophilus pleuropneumoniae), _infection in pigs. Update on disease treatment, control and prevention. *Veterinary Extension, Vol 5, No 3*.
24. Paradis SE, Dubreuil JD, Gotschalk M. (1999). Inhibition of adherence of *Actinobacillus pleuropneumoniae* to porcine respiratory tract cells by monoclonal antibodies directed against and partial characterization of the LPS receptor. *Current Microbiology, Vol. 39*; 313-320.
25. Pérez G.I. Procesos respiratorios en el cebo porcino: Factores predisponentes y etiológicos. *Ciencias Veterinarias*.
26. Perfumo JC, Petruccielli AM, and Itagaki S. (1999). Pulmonary lesions in guinea pigs. Experimentally infected with *Actinobacillus pleuropneumoniae* serovar 1. *J. vet. Med. Sci.* 61(2); 163-165.
27. Pol J.M.A., van Leengoed L.A.M.G., Stockhofe N., Kok G., y otros. (1997). Dual infections of PRRSV / influenza or PRRSV / *Actinobacillus pleuropneumoniae* in the respiratory tract. *Veterinary Microbiology* (55); 259-264.
28. Prideaux CT, Lenghaus C, Krywult J and Hadgson ALM. (1999). Vaccination and protection of pig against preuropneumonia with a vaccine strain of *Actinobacillus pleuropneumoniae* produced by site-specific mutagenesis of the ApxII operon. *Infection and immunity*. 1962-1966.
29. Prideaux TCH. (2000). Usig live genetically modified *Actinobacillus pleuropneumoniae* strains. To immunize against disease. *The 16th international pig veterinary society congress Melbourne Australia*. 434-442.

30. Rodríguez F.E.F., Gutiérrez M.C., Víctor de la P., García N. Y otros. Perspectiva etiológica en la pleuroneumonía porcina aproximaciones actuales.
31. Rodríguez F.E.F. (2002). Caracterización y prevalencia de cepas de *Actinobacillus pleuropneumoniae* en España. *Anaporc.*
32. Rodríguez F.E.F., Barcelo J., Gomez S. (2002). *Actinobacillus pleuropneumoniae* (APP).
33. Tadjine M. , Mittal K.R. (2001). Study of antigenic heterogeneity among *Actinobacillus pleuropneumoniae* serotype 7 strains. *Veterinary Microbiology* (78):49-60.
34. Vargas S. A. (Tesis) Impacto de las enfermedades respiratorias en las granjas porcinas. UNAM, México DF; 2-63.
35. Velázquez A. JC. (1998). Principales protagonistas de la respuesta inflamatoria a la infección. *Rev. Cubana Pediatr.* 70 (2); 84-91.
36. Watrang E, Wallgren P, Fassum C. (1998). *Actinobacillus pleuropneumoniae* serotype 2 effects an the interferon- α production of porcine leukocytes in vivo and in vitro. *Comparative Immunology, Microbiology & Infectious disease.* 21: 135-154.
37. Williams J de J., Torres- Leon M.A., Echeverria-Coello P., y otros. (2000). Aislamiento e identificación de *Actinobacillus pleuropneumoniae* en pulmones de cerdos con pleuroneumonía crónica sacrificados en el rastro de Mérida, Yucatán, México. *Rev. Biomed.* 11:175-181.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN