

Pleuroneumonía porcina. Un enemigo fácil de derrotar?

Autor: Vitelio Utrera T., Universidad Central de Venezuela, Facultad de Ciencias Veterinarias. Dpto. de Medicina Poblacional y Susan del Castillo P. Empresa de Diagnóstico Veterinario C.A.

La pleuroneumonía porcina producida por *Actinobacillus pleuropneumoniae* es una de las enfermedades de mayor impacto asociadas al Complejo respiratorio del cerdo. Una evaluación del efecto derivado del diagnóstico de la enfermedad evidenció recientemente que las pérdidas económicas estaban en el orden de los \$ 53 millones anuales en Estados Unidos.

El significativo impacto económico de la pleuroneumonía porcina, ha justificado la intensa actividad de investigación generada en los últimos años en búsqueda de la identificación de los factores asociados a la producción de esta enfermedad. La información generada a través de esos años de investigación nos permite hoy en día conocer al menos parcialmente:

1. Cuales son los factores de virulencia del agente causal responsables de la producción de la enfermedad,
2. Algunas de las condiciones necesarias para que la bacteria exprese sus factores de virulencia in vitro y poder diseñar un inmunógeno eficaz en la protección contra la enfermedad.
3. La epidemiología de la pleuroneumonía que permita cortar los eslabones de la cadena de transmisión de la infección y diseñar un plan efectivo de erradicación.

El objetivo de este artículo es el de presentar una revisión de la enfermedad y del agente causal que aporte herramientas para ser más efectivos en el diagnóstico, control y o erradicación del problema.

CONOCIENDO AL AGENTE CAUSAL

Actinobacillus pleuropneumoniae es una bacteria Gram negativa inmóvil, no formadora de esporas, coccobacilar, con formas filamentosas que son raras en los cultivos jóvenes pero se hacen más evidentes después de 24-96 horas de incubación. La presencia de capsula es más evidente en los cultivos jóvenes menores de 6 horas de incubación (Nicolet, 1986).

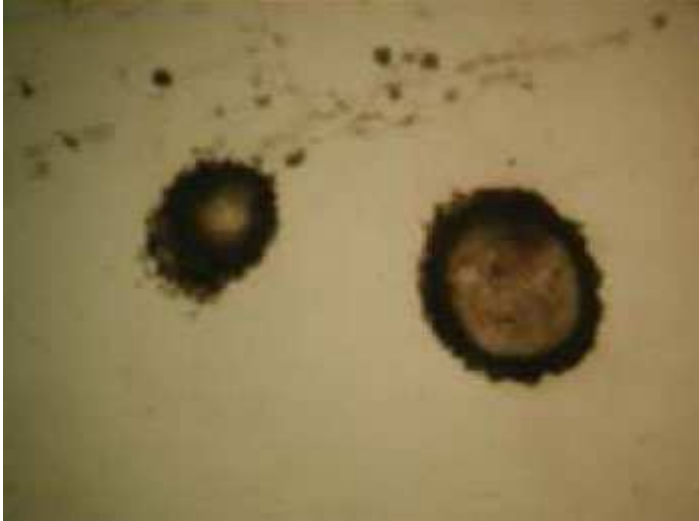


Fig. 1. La presencia de capsula es mas evidente en los cultivos jóvenes menores de 6 horas de incubación

Es un agente nutricionalmente exigente que requiere el suministro de una fuente de piridin nucleotido (factor V) para el crecimiento in vitro, (Kilian, 1976; Kilian et al, 1978). A fin de garantizar este requerimiento, es necesario suplementar el medio con Nicotinamida Adenina Dinucleotido (NAD). Esa alta afinidad por el NAD, explica la capacidad para competir eficazmente por dicho compuesto in vivo, (O'Reilly and Niven, 1986).

Basado en el requerimiento de NAD, dos biotipos han sido descritos: el biotipo 1 (que incluye a las cepas que requieren de NAD) y el biotipo 2 (que comprende cepas que no necesitan el suplemento de NAD para su crecimiento in vitro).

El aislamiento del microorganismo de animales crónicamente infectados, usualmente se complica por la contaminación con otros agentes de mas rápido crecimiento, (Nicolet, 1986). Para evitar ese inconveniente, Pijoan et al, (1983), desarrollaron una técnica de dilución que permite incrementar la tasa de aislamiento a partir de pulmones recolectados a nivel de la sala de matanza. En nuestro laboratorio hemos obtenido una excelente tasa de recuperación de la bacteria a partir de muestras de pulmón utilizando hisopos inmersos en caldo BHI adicionado de NAD al 0.01%.

La capacidad de la bacteria para fermentar diferentes carbohidratos ha sido una de las herramientas más útiles para su identificación. Todos los cultivos de *A. pleuropneumoniae* fermentan la glucosa y la ribosa, (Biberstein et al, 1977) Basado en la prueba de la ureasa, es posible diferenciar: *A. pleuropneumoniae*: ureasa positiva de *Haemophilus parasuis* que es ureasa negativa.

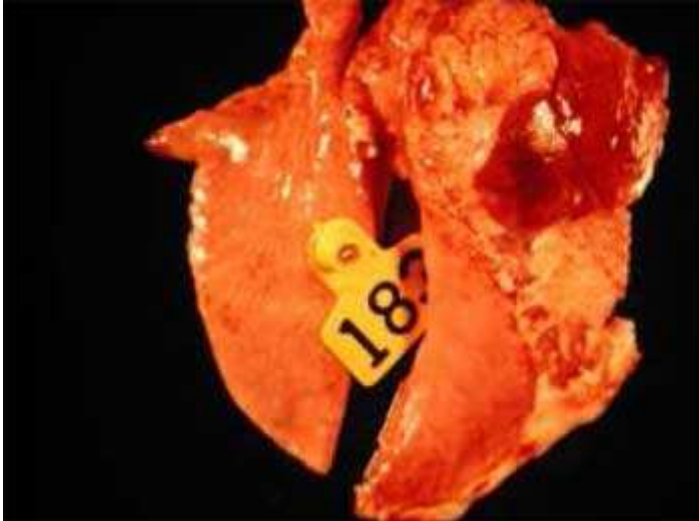


Fig.2. El aislamiento del microorganismo de animales crónicamente infectados, usualmente se complica por la contaminación con otros agentes de más rápido crecimiento

Las toxinas ApxI, ApxII, Apx III, y Apx IV constituyen el factor primario de virulencia de *A. pleuropneumoniae*. Siendo las toxinas ApxI y ApxII producidas por todas las cepas virulentas de esta bacteria. Dichas toxinas son hemolíticas, la máxima expresión de ambas ocurre al final de la fase exponencial y al principio de la fase estacionaria cuando son cultivadas en medio de infusión cerebro corazón adicionado de NAD. Esta expresión contrasta con lo reportado con relación a la producción de antígenos capsulares los cuales son expresados en mayor concentración al inicio de la fase exponencial (alrededor de las 4 a 6 horas de incubación a 37 grados C) (Jarma y Regassa, 2004).



Fig 3. La técnica de PCR para la detección de *A. pleuropneumoniae* es de utilidad para la detección de cerdos portadores de la bacteria a partir de hisopados nasales

Apx I a diferencia de las otras toxinas, requiere de la adición de Ca al medio para su expresión in vitro.

SEROTIPOS DE *A. pleuropneumoniae*

La presencia de una capsula de naturaleza polisacárida constituye la base para la tipificación serológica de *A. pleuropneumoniae*, ya que los antígenos serotipo específicos están presentes en esta estructura, (Nicolet, 1986).

Quince serotipos de *A. pleuropneumoniae* han sido reconocidos hasta la fecha. Las cepas de referencia de los serotipos 1 al 12 y el serotipo 15 son NAD dependientes (biotipo 1), mientras que las pertenecientes a los serotipos 13 y 14 son NAD independientes (biotipo 2).

Las reacciones cruzadas entre los diferentes serotipos está asociada con la existencia de antígenos comunes presentes a nivel del LPS y de proteínas de la membrana externa de la bacteria siendo las reacciones cruzadas mas intensas aquellas relacionadas a las proteínas de peso molecular de 52 Kd y de 78 kd, (Rapp et al, 1986).

Recientemente, Gottschalk et al, (2000) han reportado la existencia de cepas que reaccionan positivamente frente a antisueros de serotipos 1, 4 y 7. Estas cepas poseen una capsula de polisacárido antigenicamente relacionada con el serotipo 1 así como también una cadena O-de LPS antigenicamente relacionada con los serotipos 4 y 7, siendo el patrón de producción de toxinas similar al de serotipo 7. Pruebas de ELISA basadas en LPS identificarán estas cepas como serotipo 7 mientras que pruebas basadas en antígenos capsulares las identificarán como pertenecientes al serotipo 1.

La existencia de subtipos ha sido reportada para los serotipos 1 (Utrera 1991) y 5 (Nielsen, 1988). En el caso del serotipo 5 se ha demostrado la presencia de antígenos capsulares de naturaleza polisacárido específicas para cada subtipo A y B.

La serotipificación ha sido por muchos años la base para la identificación de las cepas aisladas de *A. pleuropneumoniae*. El método de coagulación fue recomendado por un grupo de expertos como la técnica de elección para la tipificación rutinaria de aislamientos (Nicolet, 1986). Esta prueba ha demostrado ser serotipo específica, sensible, simple, rápida, reproducible y fácil de leer e interpretar, (Mittal et al, 1987). La prueba de coagulación ha demostrado ser lo suficientemente sensible como para detectar antígenos serotipo específicos en extractos salinos de tejidos calentados hasta la ebullición, (Mittal et al, 1983).

La técnica de reacción en cadena de la polimerasa, es de utilidad para identificar diferentes serotipos utilizando un set de primers para los genes de las citolisinas ApxI, ApxII, ApxIII y ApxIV. Mediante esta técnica, 10 de 13 serotipos pudieron ser diferenciados, sin embargo, no fue posible distinguir entre los serotipos 2 y 8, serotipo 5a del 5b y serotipo 9 del 11 (Sthitmatee et al, 2003; Klein et al, 2003).

DIAGNOSTICO SEROLOGICO

Cerdos infectados con *A. pleuropneumoniae* producen anticuerpos contra los principales componentes antigénicos de la bacteria tales como antígenos serotipo-específicos capsulares, proteínas de membrana externa (OMP), lipopolisacáridos (LPS) y toxinas Apx, (Devenish et al, 1989; Fenwick and Osburn, 1986; Inzana and Mathison, 1987;

Rapp and Ross, 1986; Rosendal et al, 1988).

Diferentes métodos han sido desarrollados para evaluar la respuesta inmune humoral contra *A. pleuropneumoniae*. Por muchos años la prueba de fijación de Complemento fue aceptada como la técnica standard para la identificación serológica de animales infectados con *A. pleuropneumoniae*, (Lombin et al, 1982; Nicolet, 1990; Nielsen, 1990). Debido a la actividad pro complementaria del suero de cerdo la actividad hemolítica del complemento de cobayos es incrementada dando lugar a reacciones falsas negativas principalmente a diluciones bajas del suero (Bankowsky, 1953; Boulanger, 1955). Aparte de ello el suero de cerdo posee una leve actividad hemolítica contra glóbulos rojos de carnero, ambos efectos pueden ser abolidos mediante el calentamiento del suero a 60 ° C por 30 min., (Nicolet, 1971; Nielsen, 1982).



Fig 4. Cerdos que albergan *A. pleuropneumoniae* en el tracto respiratorio superior, no muestran niveles de anticuerpos en el suero.

ELISAs desarrollados para la detección de antígenos de LPS han demostrado ser específicos y útiles para el diagnóstico serológico de la enfermedad (Klausen et al, 2001). Pruebas basadas en la detección del antígeno O-LPS han sido descritas, sin embargo recientemente se demostró la existencia de cepas con LPS incompleto o truncado las cuales no pueden ser detectadas mediante esta técnica.

La respuesta inmune humoral contra las toxinas Apx de *A. pleuropneumoniae* ha sido extensamente estudiada (Devenish et al, 1989). Una ELISA indirecta ha sido recientemente desarrollada que permite la detección de anticuerpos dirigidos contra la Apx IV de *A.*

pleuropneumoniae. Dicha técnica demostró poseer 100 % de especificidad y 93.8 % de sensibilidad pudiendo identificar rebaños positivos a la bacteria aun en ausencia de signos clínicos. Cerdos vacunados con una vacuna de subunidades conteniendo las toxinas Apx I, Apx II y Apx III resultan negativos a esta técnica de ELISA (Dreyfus et al, 2004).

Recientemente fue demostrado que la cito**lisina** Apx III del serotipo 15 no era detectada por las técnicas serológicas que evidencian Apx III de los otros serotipos, de igual manera vacunas que contienen la cito**lisina** Apx III no protegen contra dicho serotipo lo cual sugiere que posee factores de virulencia diferentes o que la cito**lisina** Apx III posee diferencias significativas con la expresada por otros serotipos (Tumamao et al, 2004)

Títulos altos de anticuerpos contra ApxI, ApxII y contra antígenos capsulares son detectados en cerdos que presentan lesiones pulmonares. Cerdos que albergan *A. pleuropneumoniae* en el tracto respiratorio superior, no muestran niveles de anticuerpos en el suero. Por lo tanto, métodos mas sensibles para la detección del agente tales como PCR son necesarias para la detección e identificación de cerdos portadores ya que las pruebas serológicas no son útiles para ese fin (Fittipaldi et al, 2003). El uso de hisopados tonsilares puede ser de utilidad para la detección de cerdos portadores sanos de la bacteria, utilizando la técnica de reacción en cadena de la polimerasa (PCR). Dicha técnica demostró una buena correlación con el status serológico de los cerdos inoculados experimentalmente (Fittipaldi, et al, 2003). La técnica de PCR para la detección de *A. pleuropneumoniae* desarrollada en base a la amplificación del gen dsbE-like, demostró ser de utilidad para la detección de cerdos portadores de la bacteria a partir de hisopados nasales (Chiers et al, 2001).

Una prueba de PCR serotipo especifica demostró que diferentes serotipos pueden colonizar las amígdalas de un mismo animal (Angen y Jessing, 2004).

MECANISMOS de VIRULENCIA

Diferentes factores han sido identificados en *A. pleuropneumoniae* asociados con la patogénesis de la enfermedad y/o permiten que la bacteria sobreviva in vivo.

Toxinas

La virulencia de los 15 serotipos de *A. pleuropneumoniae* es principalmente determinada por las tres principales toxinas RTX ApxI, ApxII y ApxIII, las cuales son secretadas por todos los serotipos virulentos de este microorganismo en diferentes combinaciones. Una cuarta toxina, ApxIV, es producida por todos los 15 serotipos durante la infección pero no in vitro.

Por lo tanto cerdos infectados con *A. pleuropneumoniae* producen anticuerpos específicos contra la ApxIV, mientras que, cerdos libres de la enfermedad pueden presentar anticuerpos dirigidos contra cualquiera de las otras toxinas que también pueden ser producidas por otras especies de *Actinobacillus* tales como *A. suis*.

El desarrollo de mutantes no virulentas que carecen o expresan las citolisinas de una manera reducida han sido descritas. Utrera (1991), demostró que la baja virulencia de una cepa de serotipo 1 estaba en parte asociada con una reducida expresión de capsula así como también de la citolisina Apx I.

Bei y col (2005) desarrollaron una mutante avirulenta de *A. pleuropneumoniae* serotipo 7 que expresaba la toxina Apx II inactivada. Dicha mutante produjo 100 % de

inmunidad protectora contra el desafío homólogo con el serotipo 7 y protección parcial (70 %) contra el desafío heterólogo con cepas de serotipo 1 y 3.

La inoculación intratraqueal de las toxinas purificadas de *A. pleuropneumoniae* ha demostrado ser eficaz en reproducir las lesiones típicas de pleuroneumonía en cerdos susceptibles (Kamp et al 1989). Dicho efecto fue mucho más marcado con las toxinas Apx I y Apx III.

Mutantes de *A. pleuropneumoniae* que carecen de Apx I y de Apx II fueron incapaces de inducir las lesiones características de la enfermedad, lo que sugiere que ambas toxinas son esenciales en la patogénesis de la pleuroneumonía (Boekema et al, 2004).

Capsula

Los polisacáridos capsulares de *A. pleuropneumoniae* han sido asociados con la patogénesis. Dichas moléculas juegan un papel importante en garantizar a la bacteria una barrera protectora contra las defensas del hospedador (Fenwick et al, 1986; Fenwick and Osburn, 1986; Inzana et al, 1988). Mutantes isogénicas no encapsuladas son generalmente avirulentas y son fácilmente eliminadas por las defensas del hospedador (Inzana et al, 1988). La cantidad de material capsular asociado a la célula bacteriana ha sido responsabilizado por las diferencias en virulencia observada entre las diferentes cepas de *A. pleuropneumoniae* serotipos 1 y 5 (Jensen and Bertram, 1986; Jacques et al, 1988; Rosendal et al, 1990).

Lipopolisacáridos (LPS)

El LPS de las bacterias Gram negativas contribuyen al potencial patogénico de los microorganismos al activar los mecanismos de defensa del hospedador siendo responsables en algunos casos de daño a los tejidos y signos clínicos asociados a la infección (Fenwick, 1990).

Proteínas de Membrana Externa

El papel que juegan ciertas proteínas de la envoltura celular en patogenicidad e inmunidad ha sido estudiado. (Denner and Potter, 1989; Smeltzer and Fenwick, 1989). Archambault et al, 2003 demostraron la existencia de proteínas de membrana que se unen a la Hemoglobina del cerdo lo cual sugiere que podrían ser un mecanismo de captura de hierro para la supervivencia de la bacteria in vivo.

La lactoferrina, la transferrina y la hemoglobina son moléculas con alta afinidad por el hierro que reducen la disponibilidad de este mineral para patógenos potenciales. La capacidad para captar hierro de estas moléculas ha sido demostrada en las cepas patógenas de *A. pleuropneumoniae* a través de ciertas proteínas de membrana que son expresadas in vivo (Beddek et al, 2004) Recientemente se ha demostrado que una proteína de la membrana externa de *A.*

pleuropneumoniae de 60 kd es responsable de la adherencia al colágeno presente en el

pulmón del cerdo y pudiera ser un factor importante en la patogénesis de la enfermedad. Se ha demostrado que la adherencia al colágeno porcino es más evidente en los serotipos 1 y 7 (Enriquez-Verdugo,etal,2004).

Fimbrias

Cerdos sanos o enfermos en forma subclínica, pueden albergar *A. pleuropneumoniae* a nivel de cavidad nasal y de tonsilas, (Nielsen, 1979; Kume et al, 1984; Kume et al, 1986; Wilson et al, 1987). Inzana et al (1988), demostraron la existencia de estructuras semejantes a fimbrias en *A. pleuropneumoniae* fagocitado por células polimorfonucleares. La expresión de fimbrias fue demostrada cuando cultivos de primer y segundo pasaje a partir de cerdos infectados fueron evaluados a través de microscopio electrónico de transmisión (Utrera y Pijoan, 1991). La capacidad de la bacteria para expresar esas estructuras parece perderse después de pasajes sucesivos in vitro.

Las fimbrias de *A. pleuropneumoniae* poseen una proteína de 17-kd, que reacciona en forma cruzada con la fimbria tipoIV de *M. bovis*. La regulación genética asociada con la expresión de las fimbrias ha sido evaluada (Boekema et al, 2004). La expresión de dichos genes ha sido demostrada después que la bacteria entra en contacto con células epiteliales e in vivo después de la inoculación experimental por vía endobronquial.

PATOGENESIS

La infección usualmente ocurre a través de la vía aérea o por contacto directo. El microorganismo es capaz de colonizar las amígdalas y adherirse al epitelio alveolar. En general, el paso inicial para la colonización bacteriana lo constituye la adherencia a las células del hospedador. Se ha demostrado que *A. pleuropneumoniae* es capaz de unirse in vitro a fosfolípidos el cual representa el principal componente de las membranas celulares. El antígeno O del LPS está implicado en tal adherencia ya que anticuerpos monoclonales dirigidos contra ese antígeno, inhiben tal unión (Jeannotte et al, 2003).

Kaplan et al (2005), demostraron que *A. pleuropneumoniae* tiene la capacidad de formar biofilms o bio películas en medio de cultivo sólido, propiedad que pierde después de uno o dos pasajes in vitro. La propiedad fenotípica de formar bio películas pudiera ser un factor importante para la colonización, virulencia y transmisión del agente.

Las bacterias en el biofilm son rodeadas por una matriz sintetizada por ellas mismas que mantiene las células agrupadas en una masa y las adhiere firmemente a las superficies subyacentes. Dicha matriz es de naturaleza polisacárida (Costerton et al, 1999). Esta matriz aparte de garantizar un microambiente protegido a las células, contiene nutrientes disueltos y [enzimas](#) secretadas, pudiendo ser responsable de la resistencia a ciertos antibióticos así como también a las defensas del hospedador.

A. pleuropneumoniae también es capaz de adherirse a las células bucales epiteliales lo cual puede ser un factor importante en la existencia de cerdos portadores sanos, (Hammer-Barrera et al, 2004), La presencia de fimbrias también debe jugar un papel en la adherencia de la bacteria a las superficies mucosas.

Bajo ciertas circunstancias la bacteria puede llegar al pulmón en donde es fagocitada rápidamente por los macrófagos alveolares. Cuando la concentración de bacterias que alcanza el pulmón es muy elevada, supera la capacidad fagocítica de los macrófagos, observándose bacterias adheridas a la superficie de las células fagocíticas desde donde comienza la secreción de las toxinas ApxI, Apx II, Apx III y/o Apx IV. Dichas toxinas poseen efecto toxico sobre los macrófagos alveolares, células endoteliales, células epiteliales alveolares, siendo la Apx III de particular efecto toxico contra macrófagos alveolares.

Las cepas de mayor virulencia tienen la capacidad de producir una mayor cantidad de capsula la cual previene la fagocitosis. La presencia de LPS activa la elaboración de citoquinas que contribuyen al daño tisular asociado con la infección pulmonar.

Las infecciones concomitantes con agentes como el virus del PRRS y/o *Mycoplasma hyopneumoniae* contribuyen a un cuadro clínico mas severo.

Las lesiones necróticas y hemorrágicas a nivel pulmonar pueden ser evidentes de 3 a 5 horas post infección, con presencia de congestión y edema a nivel de la pared alveolar. Hay acumulación de neutrofilos, acumulación de fibrina, presencia de trombosis e infartos. En casos de bacteriemia el cuadro clínico se hace mucho más severo y puede presentarse muerte sobreaguda. A medida que pasan los días se produce muerte de macrófagos y neutrófilos que se acumulan en la lesión y a nivel de los bronquios. A medida que la lesión evoluciona se hace necrótica y comienza un proceso de fibrosis que conduce a la cicatrización. La infección genera la producción de anticuerpos dirigidos contra cada uno de los factores de virulencia bacteriana. Esos anticuerpos son evidentes a partir de los 10 días post infección. Anticuerpos contra la Apx IV no se producen cuando la bacteria coloniza el epitelio nasal o el epitelio de las amígdalas.

EPIDEMIOLOGIA

Modo de transmisión

Cerdos portadores sanos o portadores crónicos juegan un papel crucial en la epidemiología de la enfermedad y representan la principal fuente de infección de cerdos susceptibles (Sebunya and Saunders, 1983; Nielsen, 1982).

El contacto directo nariz con nariz constituye el modo mas importante de transmisión de la infección, (Nicolet, 1986; Nielsen, 1982; Shope, 1964; Olander, 1963; Nielsen, 1970; Little and Harding, 1971).

El modo de transmisión aéreo no parece ser una manera común de contagio. Torremorell et al (1997), demostraron que la transmisión aérea era posible a un metro de distancia. Sin embargo Kristensen et al, (2004), no fueron capaces de demostrar transmisión a esa distancia cuando menos del 10 % del aire era transferido de un área contaminada a un área libre del patógeno, simulando lo que normalmente ocurre bajo condiciones naturales.

Desrosier et al, (1984) no fue capaz de demostrar la transmisión de la infección por vía aérea durante un periodo de 2 meses en un ensayo en donde cerdos susceptibles fueron

mantenidos separados de animales infectados en forma aguda y mantenidos a 3 metros de distancia de los enfermos, (Desrosiers et al, 1984).

La transmisión de *A. pleuropneumoniae* a través de vehículos contaminados fue demostrada por Fussing et al, (1998).

Factores predisponentes

Por lo general la infección por *A. pleuropneumoniae* es subclínica hasta que una situación de stress, resulta en la aparición de brotes, (Rosendal and Mitchell, 1983). Cambios climáticos bruscos con frecuencia representan el factor predisponente de los brotes, (Sandford and Josephson, 1981; Sebunya et al, 1982; Greenway, 1981; Rosendal et al, 1985). La severidad de la enfermedad esta correlacionada con el nivel de inmunidad del rebaño afectado, (Shope, 1964; Mylrea et al, 1974; Schiefer et al, 1974; Nielsen and Mandrup, 1977).

Brotos de la enfermedad han estado asociados con, hacinamiento, pobres condiciones sanitarias, sistemas de producción de flujo continuo, pobre [ventilación](#), humedad elevada y variaciones extremas de temperatura a lo largo del día, (Nielsen et al, 1976; Sandford and Josephson, 1981; Schultz et al, 1982; Gunnarson et al, 1977; Pijoan et al, 1983).

Papel de las madres

La inmunidad de las madres juega un rol crítico en la epidemiología de la enfermedad. La duración de la inmunidad calostrala oscila entre 2 a 8 semanas, dependiendo principalmente del nivel de anticuerpos obtenidos a partir de la madre (Utrera et al, 2000; Vigre et al, 2003). Una reducción significativa de la prevalencia de lesiones a nivel de matadero ha sido demostrada a consecuencia de la aplicación de un programa de vacunación del rebaño (Beskow et al, 1989; Utrera et al, 2000).



Fig. 5. La inmunidad de las madres juega un rol crítico en la epidemiología de la enfermedad

La erradicación de la enfermedad ha sido posible con la aplicación de técnicas de medicación y despoblación así como también el manejo todo dentro todo fuera (Desrosiers, 2004; Nielsen, 1982).

INMUNIDAD

Uno de los elementos claves que determinan la evolución de la enfermedad en los rebaños afectados, lo constituye la inmunidad contra el agente causal. Una vez que un animal se recupera de la infección, adquiere protección contra el desafío por todos los serotipos de A.

pleuropneumoniae (Nielsen, 1984). El control de la enfermedad mediante bacterinas elaboradas a base de células completas ha sido tradicionalmente insatisfactorio induciendo una pobre inmunidad que solo es serotipo-específica (Nicolet, 1990; Nielsen, 1976; Fedorka-Cray et al, 1990).

La presencia de inmunidad calostrada es un factor importante que se ha demostrado que interfiere en la inmunidad activa de los lechones (Nechvatalova et al, 2004). Una típica respuesta inmune primaria solo es evidente en lechones que no poseen anticuerpos calostrales al momento de ser desafiados.

La vacunación de las madres ha demostrado poseer un efecto positivo en la estabilización de la inmunidad del rebaño y en reducir la incidencia del problema en cerdos destetados (Utrera et al, 2000). El uso de vacunación simultánea contra *Mycoplasma hyopneumoniae* y *A pleuropneumoniae* ha demostrado ser efectivo para garantizar un buen nivel de inmunidad calostrada contra ambas enfermedades (Kristensen et al, 2004).

La inmunidad calostrada posee un efecto protector contra la infección por *A. pleuropneumoniae*, (Nielsen, 1982). La duración de la inmunidad pasiva varía entre 2 a 8 semanas dependiendo del nivel de anticuerpos adquiridos (Utrera et al, 2000; Vigre et al, 2003). No existe correlación entre los niveles de inmunoglobulinas dirigidas contra antígenos capsulares serotipo específicos y la protección. Esto contrasta con la inmunidad protectora asociada con el nivel de anticuerpos específicos contra las toxinas Apx.

Diseñando la vacuna ideal

A la hora de tomar decisiones acerca de cuál podría ser la mejor vacuna para el control de la enfermedad es importante comprender cuáles son los antígenos responsables de inducir una inmunidad protectora.

Cada uno de los componentes antigénicos de la bacteria han demostrado ser inmunogénicos, sin embargo, cada uno de ellos por separado induce una protección parcial contra los signos clínicos y las lesiones producidas por *A. pleuropneumoniae* (Inzana et al, 1988; Fenwick and Osburn, 1986; Kamp and Leengoed, 1989; Rapp and Ross, 1986).

La inmunidad protectora contra la infección por *A. pleuropneumoniae* esta directamente relacionada con los niveles de anticuerpos específicos contra las toxinas Apx I, Apx II, Apx III y Apx IV. La colonización de las amígdalas y de la mucosa nasal puede ocurrir en presencia de anticuerpos calostrales. El desarrollo de anticuerpos neutralizantes contra las toxinas Apx requiere que la infección se haya ubicado a nivel pulmonar ya que la colonización a nivel nasal o de amígdalas no induce un nivel suficiente de anticuerpos neutralizantes, por lo tanto, cerdos portadores del microorganismo a nivel de amígdalas o cavidad nasal sin involucrar los pulmones carecen de inmunoglobulinas específicas contra las toxinas Apx de *A. pleuropneumoniae* (Chiers et al, 2002), esto explica el porque dichos animales son susceptibles de sufrir la enfermedad a pesar de albergar el agente a nivel del tracto respiratorio superior.

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

Una vacuna capaz de prevenir la adhesión del microorganismo a las células epiteliales del tracto respiratorio superior podría ser efectiva en prevenir la aparición de cerdos portadores sanos. Bacterias cultivadas bajo condiciones de restricción de la disponibilidad de NAD (0.001 % NAD), poseen una incrementada capacidad de adherencia a las células alveolares (van Overbeke et al, 2002). Bacterinas elaboradas bajo tales condiciones demostraron inducir una protección parcial pero superior a aquellas elaboradas con medio de cultivos enriquecidos con NAD (Van Overbeke et al, 2003).

TERAPIA

Entre los antibióticos de elección para el tratamiento de la pleuroneumonía porcina están la tilmicosina (Paradis et al, 2004), la tulatromicina, el florfenicol, el ceftiofur sodico y la tiamulina entre otros (Nanjianni et al, 2005). El uso de tilmicosin ha sido reportado de utilidad en la terapia de animales afectados. La actividad bactericida de los macrófagos alveolares fue potenciada por este [antibiótico](#) (Brumbaugh et al, 2002).

La administración oral de tilmicosin a cerdos infectados con *A. pleuropneumoniae* induce apoptosis en leucocitos del fluido bronco alveolar y disminuye las concentraciones de células y las lesiones inflamatorias asociadas con la infección (Nerland et al, 2005).

La terapia con Amoxicilina a razón de 20 mg/kg como dosis únicas demostró ser tan efectiva como la administración de 4 dosis de 5 mg/kg a intervalos de 8 horas (Lauritzen et al, 2005). Aparte del uso de antibióticos, la sueroterapia podría ser una alternativa. La producción de inmunoglobulina Y en huevos de gallinas ha sido reportado como una alternativa para el control de los signos y lesiones asociados a la infección (Shin et al, 2002). Dichos investigadores fueron capaces de prevenir la enfermedad en cerdos que consumieron yema de huevo inmune frente a *A.*

pleuropneumoniae.

ERRADICACION

La erradicación de la pleuroneumonía porcina es factible y ha sido previamente documentada. En teoría se deben cumplir al menos las siguientes premisas:

1. estabilizar la inmunidad de la población de madres garantizando que transmitan una sólida inmunidad pasiva a sus lechones que dure de 6 a 8 semanas.
2. Destetando los lechones y segregando la producción en un sistema todo dentro todo fuera.

Estas dos medidas han sido efectivas en muchas explotaciones para reducir significativamente la manifestación clínica de la enfermedad.

El uso de medicación masiva con tilmicosin a las madres a razón de 400 p.m. ha sido reportado de utilidad para la erradicación (Allison, 2004).

Estudios recientes en Dinamarca señalan haber eliminado con éxito la enfermedad después de haber procedido a despoblar todos los cerdos menores de 6 meses de edad, limpieza y [desinfección](#) a fondo de las instalaciones y repoblación con animales libres de la bacteria, además de medicar todos los cerdos adultos con 1600 ppm de Tilmicosin durante 24 días (alrededor de 16 mgs por kg de alimento); aquellos cerdos que no consuman el alimento, deben ser medicados parenteralmente con Ceftiofur sodico. Al evaluar los cerdos serologicamente 8 meses mas tarde, no detectaron positividad a la bacteria.

Es importante señalar que en ese estudio no se evaluó la existencia de cerdos portadores mediante la técnica de PCR. Esto reviste especial importancia ya que aun cuando el tilmicosin elimina al microorganismo de la superficie de las amígdalas, estudios de PCR a nivel de las criptas demostraron que una dosis de Tilmicosin superior a la del mencionado reporte, (20 mg por kg) durante 30 días puede significativamente reducir la presencia de *A. pleuropneumoniae* de la superficie de las amígdalas palatinas sin eliminar completamente la bacteria de los tejidos profundos (Klopfenstein et al, 2004) por lo que es importante considerar la aplicación de productos que aumenten la inmunidad o prevengan la colonización (vacunas dirigidas contra antígenos asociados con adherencia pudiera ser la alternativa). (Eriksen, 2004).

CONCLUSION

El manejo de la información disponible referente al agente causal de la pleuroneumonía porcina, su diagnóstico, la epidemiología de la enfermedad y los factores necesarios para garantizar una adecuada inmunidad y/o terapia del agente permiten disponer de herramientas que hacen posible la erradicación de esta severa enfermedad.

REFERENCIAS

Allison G.I., Elimination of *Actinobacillus pleuropneumoniae* utilizing whole herd whole herd tilmicosin therapy. Proc, 18th IPVS Congress. Hamburg. Germany. 2004, p 184.

AngenØ and Jessing S, PCR test for serotype specific identification and detection of *Actinobacillus pleuropneumoniae*. Proc, 18th IPVS Congress. Hamburg. Germany. 2004, p 475.

Archambault M, Labrie J, Rioux CR, Dumas F, Thibault P, Elkins C, Jacques M. Identification and preliminary characterization of a 75-kDa hemin- and hemoglobin-binding outer membrane protein of *Actinobacillus pleuropneumoniae* serotype 1. Can J Vet Res. 2003 67(4):271-7.

Bankowsky RA, Wickmann R, Kummer. A complement-fixation test for identification and differentiation of immunological types of the virus of vesicular exanthema of swine. Am J Vet Res. 1953. 14, 145-149.

Beddek AJ, Sheehan BJ, Bosse JT, Rycroft AN, Kroll JS, Langford PR. Two TonB systems in *Actinobacillus pleuropneumoniae*: their roles in iron acquisition and virulence. Infect Immun. 2004;72(2):701-8.

Bei W, He Q, Yan L, Fang L, Tan Y, Xiao S, Zhou R, Jin M, Guo A, Lv J, Huang H, Chen H. Construction and characterization of a live, attenuated apxIIICA inactivation mutant of *Actinobacillus pleuropneumoniae* lacking a drug resistance marker. FEMS Microbiol Lett. 2005 1;243(1):21-7.

Beskow-P; Soderlind-O; Thafvelin-B. *Actinobacillus* (*Haemophilus*) *pleuropneumoniae* infections in swine: serological investigations and vaccination trials in combination with environmental improvements. Zentralbl-Veterinarmed-B. 1989; 36(7): 487-94.

Biberstein EL, Gunnarson A, Hurvell B. (1977): Cultural and Biochemical Criteria for the Identification of *Haemophilus* spp from Swine. Am J Vet Res 38:7-11.

Boekema BK, Kamp EM, Smits MA, Smith HE, Stockhofe-Zurwieden N. Both ApxI and ApxII of *Actinobacillus pleuropneumoniae* serotype 1 are necessary for full virulence. Vet Microbiol. 2004;20;100(1-2):17-23.

Boulanger P. Complement fixation tests of swine serum. In the diagnosis of vesicular stomatitis. Can J Comp Med. 1955. 19, 37-47.

Brumbaugh GW, Herman JD, Clancy JS, Burden KI, Barry T, Simpson RB, Lopez HS. Effect of tilmicosin on chemotactic, phagocytic, and bactericidal activities of bovine and porcine alveolar macrophages. Am J Vet Res. 2002 Jan;63(1):36-41.

Chiers K, Van Overbeke I, Donne E, Baele M, Ducatelle R, De Baere T, Haesebrouck F. Detection of *Actinobacillus pleuropneumoniae* in cultures from nasal and tonsillar swabs of pigs by a PCR assay based on the nucleotide sequence of a dsbE-like gene. Vet Microbiol. 2001 8;83(2):147-59.

Chiers K., Donne E., Van Overbeke., Ducatelle R., and Haesebrouck P. *Actinobacillus*

pleuropneumoniae infections in closed swine herds: infection patterns and serological profiles. Proc. 17th. IPVS Congress. Ames, Iowa. 2002. p 11.

Costerton, J. W., P. S. Stewart, and E. P. Greenberg. 1999. Bacterial biofilms: a common cause of persistent infections. *Science* 284:1318-1322.

Deneer-HG; Potter-AA. Effect of iron restriction on the outer membrane proteins of *Actinobacillus* (*Haemophilus*) pleuropneumoniae. *Infect-Immun.* 1989 ;57(3): 798-804.

Desrosiers R. Epidemiology, diagnosis and control of swine diseases. AASV Proc. 2004. pp 9-38.

Desrosiers R. *Haemophilus* epidemiology and control. Proc. AASP Meeting. 1986. 493-512.

Devenish-J; Rosendal-S; Johnson-R; Hubler-S. Immunoserological comparison of 104-kilodalton proteins associated with hemolysis and cytolysis in *Actinobacillus* pleuropneumoniae, *Actinobacillus suis*, *Pasteurella haemolytica*, and *Escherichia coli*. *Infect-Immun.* 1989; 57(10): 3210-3

Dreyfus A, Schaller A, Nivollet S, Segers RP, Kobisch M, Mieli L, Soerensen V, Hussy D, Miserez R, Zimmermann W, Inderbitzin F, Frey J. Use of recombinant ApxIV in serodiagnosis of *Actinobacillus* pleuropneumoniae infections, development and prevalidation of the ApxIV ELISA. *Vet Microbiol.* 2004 19;99(3-4):227-38.

Enriquez-Verdugo I, Guerrero AL, Serrano JJ, Godinez D, Rosales JL, Tenorio V, de la Garza M. Adherence of *Actinobacillus* pleuropneumoniae to swine-lung collagen. *Microbiology.* 2004;150:2391-400.

Eriksen J. Avoid transmission of *Actinobacillus* pleuropneumoniae. In finisher pigs. 18th IPVS. Hamburg. Germany.. Vol 1. p 171.

Fedorka-Cray-PJ; Huether-MJ; Stine-DL; Anderson-GA. Efficacy of a cell extract from *Actinobacillus* (*Haemophilus*) pleuropneumoniae serotype 1 against disease in swine. *Infect-Immun.* 1990; 58(2): 358-65

Fenwick BW. Virulence attributes of the Lipopolysaccharide group of organisms. *Can J Vet Res.* 1990. S28-S32.

Fenwick-BW; Cullor-JS; Osburn-BI; Olander-HJ. Mechanisms involved in protection provided by immunization against core lipopolysaccharides of *Escherichia coli* J5 from lethal *Haemophilus* pleuropneumoniae infections in swine. *Infect-Immun.* 1986; 53(2): 298-304

Fenwick-BW; Osburn-BI. Immune responses to the lipopolysaccharides and capsular polysaccharides of *Haemophilus* pleuropneumoniae in convalescent and immunized pigs. *Infect-Immun.* 1986; 54(2): 575-82

Fittipaldi N, Klopfenstein C, Gottschalk M, Broes A, Paradis MA, Dick CP. Assessment of the efficacy of tilmicosin phosphate to eliminate *Actinobacillus* pleuropneumoniae

from carrier pigs. *Can J Vet Res.* 2005;69(2):146-50

Fussing V, Barfod K, Nielsen R, Moller K, Nielsen JP, Wegener HC, Bisgaard M. Evaluation and application of ribotyping for epidemiological studies of *Actinobacillus pleuropneumoniae* in Denmark. *Vet Microbiol.* 1998;62(2):145-62.

Gottschalk M, Lebrun A, Lacouture S, Harel J, Forget C, Mittal KR. Atypical *Actinobacillus pleuropneumoniae* isolates that share antigenic determinants with both serotypes 1 and 7. *J Vet Diagn Invest.* 2000;12(5):444-9.

Gunnarson A, Biberstein EL, Hurvell B. (1977): Serologic Studies on Porcine Strains of *Haemophilus parahaemolyticus* (pleuropneumoniae): Agglutination Reactions. *Am J Vet Res* 38(8):1111-1114.

Inzana-TJ; Ma-J; Workman-T; Gogolewski-RP; Anderson-P. Virulence properties and protective efficacy of the capsular polymer of *Haemophilus* (*Actinobacillus*) pleuropneumoniae serotype 5. *Infect-Immun.* 1988; 56(8): 1880-9.

Inzana-TJ; Mathison-B. Serotype specificity and immunogenicity of the capsular polymer of *Haemophilus pleuropneumoniae* serotype 5. *Infect-Immun.* 1987; 55(7): 1580-7

Jacques-M; Foiry-B; Higgins-R; Mittal-KR. Electron microscopic examination of capsular material from various serotypes of *Actinobacillus pleuropneumoniae*. *J-Bacteriol.* 1988; 170(7): 3314-8

Jarma E, Regassa LB. Growth phase mediated regulation of the *Actinobacillus pleuropneumoniae* ApxI and ApxII toxins. *Microb Pathog.* 2004;36(4):197-203.

Jeannotte ME, Abul-Milh M, Dubreuil JD, Jacques MB. Binding of *Actinobacillus pleuropneumoniae* to phosphatidylethanolamine. *Infect Immun.* 2003;71(8):4657-63.

Jensen-AE; Bertram-TA. Morphological and biochemical comparison of virulent and avirulent isolates of *Haemophilus pleuropneumoniae* serotype 5. *Infect-Immun.* 1986; 51(2): 419-24

Kamp-EM; van-Leengoed-LA. Serotype-related differences in production and type of heat-labile hemolysin and heat-labile cytotoxin of *Actinobacillus* (*Haemophilus*) pleuropneumoniae. *J-Clin-Microbiol.* 1989; 27(6): 1187-91

Kilian M; Nicolet J; Biberstein EL. Biochemical and serological characterization of *Haemophilus pleuropneumoniae* (Matthews and Pattison, 1961).

Kilian, M. The haemolytic activity of *Haemophilus* species. *Ibid.* 1976, 84, 339-341. 1990; 58(4): 920-9.

Klausen J, Andresen LO, Barfod K, Sorensen V. Blocking enzyme-linked immunosorbent assay for detection of antibodies against *Actinobacillus pleuropneumoniae* serotype 6 in pig serum. *Vet Microbiol.* 2001, 2;79(1):11-8.

Klein CS, Piffer IA, Ceroni da Silva S, Schrank A, Favero MB, Schrank IS. Detection of *Actinobacillus pleuropneumoniae* by PCR on field strains from healthy and diseased pigs. *Curr Microbiol.* 2003;46(6):443-7.

Klopfenstein C.m Paradis., Gottschalk M., Fittipaldi N., Broes A and Dick C.P. Evaluation of the efficacy of tilmicosin phosphate premix (Pulmotil™) to eliminate *Actinobacillus pleuropneumoniae* from the tonsils of carrier pigs. 2004. Proc. 18th IPVS Congress. Hamburg, Germany. P. 511.

Kristensen CS, Andreasen M, Ersboll AK, Nielsen JP. Antibody response in sows and piglets following vaccination against *Mycoplasma hyopneumoniae*, toxigenic *Pasteurella multocida*, and *Actinobacillus pleuropneumoniae*. *Can J Vet Res.* 2004; 68(1):66-70.

Hamer-Barrera R, Godinez D, Enriquez VI, Vaca-Pacheco S, Martinez-Zuniga R, Talamas-Rohana P, Suarez-Guemez F, de la Garza M. Adherence of *actinobacillus pleuropneumoniae* serotype 1 to swine buccal epithelial cells involves fibronectin. *Can J Vet Res.* 2004; 68(1):33- 41.

Little TWA; Harding JDJ. The comparative pathogenicity of two porcine *haemophilus* species. *Ibid.* 1971, 88, 540-545.

Lombin LH; Rosendal S; Mitchell WR. Evaluation of the complement fixation test for the diagnosis of pleuropneumonia in swine caused by *Haemophilus pleuropneumoniae*. *Can J Comp Med.* 1982. 46, 109-114.

Mittal-KR; Higgins-R; Lariviere-S. An evaluation of agglutination and coagglutination techniques for serotyping of *Haemophilus pleuropneumoniae* isolates. *Am-J-Vet-Res.* 1987; 48(2): 219-26

Mittal-KR; Higgins-R; Lariviere-S. Detection of type-specific antigens in the lungs of *Haemophilus pleuropneumoniae*-infected pigs by coagglutination test. *J-Clin-Microbiol.* 1983; 18(6): 1355-7

Mylrea PJ; Frazer G; MacQueen P; Lambourne DA. Pleuropneumonia in pigs caused by *Haemophilus parahaemolyticus*. *Austr. Vet. J.* 1974, 50, 255-259.

Nerland EM, LeBlanc JM, Fedwick JP, Morck DW, Merrill JK, Dick P, Paradis MA, Buret AG. Effects of oral administration of tilmicosin on pulmonary inflammation in piglets experimentally infected with *Actinobacillus pleuropneumoniae*. *Am J Vet Res.* 2005;66(1):100- 7.

Lauritzen B, Lykkesfeldt J, Friis C. Evaluation of a single dose versus a divided dose regimen of amoxicillin in treatment of *Actinobacillus pleuropneumoniae* infection in pigs. *Res Vet Sci.* 2005;79(1):61-7.

Nicolet J. Overview of the virulence attributes of the HAP-group of bacteria. *Can J Vet Res.* 1990. S12-S15.

Nicolet J. Sur l'hémophilose du porc. III. Differentiation serologique de *Haemophilus*

parahaemolyticus. Zbl. Bakt. I. Abt. Orig. 1971, 216, 487-495.

Nicolet, J. Haemophilus infection. In Diseases of Swine. 6th Ed. Iowa State University Press. Ames, Iowa. 1986. 368-377.

Nielsen R. (1976): Pleuropneumonia of Swine Caused by Haemophilus parahaemolyticus. Studies on the Protection Obtained by Vaccination. Nord Vet Med 28:337-348.

Nielsen R. (1979): Haemophilus parahaemolyticus Serotypes Pathogenicity and Cross Immunity. Nord Vet Med 31:407-413.

Nielsen R. Haemophilus pleuropneumoniae infection in pigs. Thesis. Royal Veterinary and Agricultural University. Copenhagen, Denmark. 1982.

Nielsen R. Pleuropneumoni hos svin fremkaldt af Haemophilus parahaemolyticus. I. Kliniske, patologisk-anatomiske og epidemiologiske undersøgelser. Nord Vet Med. 1970, 22,240- 245.

Nielsen R; Mandrup M. Pleuropneumonia in swine caused by Haemophilus parahaemolyticus. A study of the epidemiology of the infection. Ibid. 1977, 29, 465-473.

Nielsen-R. Actinobacillus pleuropneumoniae serotype 5, subtypes a and b: cross protection experiments. Acta-Vet-Scand. 1988; 29(1): 67-75

Nielsen-R. Haemophilus pleuropneumoniae serotypes--cross protection experiments. Nord-Vet-Med. 1984; 36(7-8): 221-34

Nielsen-R. New diagnostic techniques: a review of the HAP group of bacteria. Can-J-Vet-Res. 1990; 54 Suppl: S68-72

Olander HJ. A septicaemic disease of swine and its causative agent, Haemophilus parahaemolyticus. Thesis, Davis, California. 1963.

O'Reilly-T; Niven-DF. Pyridine nucleotide metabolism by extracts derived from Haemophilus parasuis and H. pleuropneumoniae. Can-J-Microbiol. 1986;32(9): 733-7

Paradis MA, Vessie GH, Merrill JK, Dick CP, Moore C, Charbonneau G, Gottschalk M, MacInnes JI, Higgins R, Mittal KR, Girard C, Aramini JJ, Wilson JB. Efficacy of tilmicosin in the control of experimentally induced Actinobacillus pleuropneumoniae infection in swine. Can J VetRes.2004;68(1):7-11.

Pi Joan C, Morrison RB, Hilley HD. (1983): Dilution Technique for Isolation of Haemophilus from Swine Lungs Collected at Slaughter. J Clin Microbiol 18(1):143-145.

Rapp-VJ; Ross-RF. Antibody response of swine to outer membrane components of Haemophilus pleuropneumoniae during infection. Infect-Immun. 1986; 54(3): 751-60

- Rosendal-S; Boyd-DA; Gilbride-KA. Comparative virulence of porcine *Haemophilus* bacteria. *Can-J-Comp-Med.* 1985; 49(1): 68-74
- Rosendal-S; Devenish-J; MacInnes-JI; Lumsden-JH; Watson-S; Xun-H. Evaluation of heat-sensitive, neutrophil-toxic, and hemolytic activity of *Haemophilus* (*Actinobacillus*) *pleuropneumoniae*. *Am-J-Vet-Res.* 1988; 49(7): 1053-8
- Rosendal-S; MacInnes-JI. Characterization of an attenuated strain of *Actinobacillus pleuropneumoniae*, serotype 1. *Am-J-Vet-Res.* 1990; 51(5): 711-7
- Rosendal-S; Mitchell-WR. Epidemiology of *Haemophilus pleuropneumoniae* infection in pigs: a survey of Ontario Pork Producers, 1981. *Can-J-Comp-Med.* 1983; 47(1): 1-5
- Sandford SE; Josephson GKA. Porcine *Haemophilus pleuropneumoniae* epizootic in southwestern Ontario: clinical, microbiological, pathological and some epidemiological findings. *Can J Comp Med.* 1981. 45, 2-7.
- Schieffer B; Moffatt RE; Greenfield J; Agar JL; Majka JA. Porcine *Haemophilus paraahaemolyticus pneumonia* in Saskatchewan. I. Natural occurrence and findings. *Can J Comp Med.* 1974. 38, 99-104.
- Schultz RA; Young TF; Ross RF; Teske DR. Prevalence of antibodies to *Haemophilus pleuropneumoniae* in Iowa swine. *Am J Vet Res.* 1982. 43, 1848-1851.
- Sebunya-TN; Saunders-JR. *Haemophilus pleuropneumoniae* infection in swine: a review. *J-Am-Vet-Med-Assoc.* 1983; 15; 182(12): 1331-7
- Sebunya-TN; Saunders-JR; Osborne-AD. A model aerosol exposure system for induction of porcine *Haemophilus pleuropneumoniae*. *Can-J-Comp-Med.* 1983; 47(1): 48-53
- Shope RE. Porcine contagious pleuropneumonia. I. Experimental transmission, etiology and pathology. *J. Exp. Med.* 1964. 119, 357-368.
- Smeltzer MS; Fenwick BW. Iron acquisition in *Actinobacillus pleuropneumoniae*: identification of a non-siderophore mediated mechanism. *Proc. CRWAD.* Chicago, Illinois. 1989. 315.
- Shin NR, Choi IS, Kim JM, Hur W, Yoo HS. Effective methods for the production of immunoglobulin Y using immunogens of *Bordetella bronchiseptica*, *Pasteurella multocida* and *Actinobacillus pleuropneumoniae*. *J Vet Sci.* 2002;3(1):47-57.
- Sthitmatee N, Sirinarumitr T, Makonkewkeyoon L, Sakpuaram T, Tesaprteep T. Identification of the *Actinobacillus pleuropneumoniae* serotype using PCR based-apx genes. *Mol Cell Probes.* 2003;17(6):301-5.
- Torremorell M, Pijoan C, Janni K, Walker R, Joo HS. Airborne transmission of *Actinobacillus pleuropneumoniae* and porcine reproductive and respiratory syndrome virus in nursery pigs. *Am JVetRes.* 1997;58(8):828-32.

Tumamao JQ, Bowles RE, van den Bosch H, Klaasen HL, Fenwick BW, Blackall PJ. An evaluation of the role of antibodies to *Actinobacillus pleuropneumoniae* serovar 1 and 15 in the protection provided by sub-unit and live streptomycin-dependent pleuropneumonia vaccines. *Aust Vet J.* 2004;82(12):773-80.

Utrera V, Pijoan C. Fimbriae in *A. pleuropneumoniae* strains isolated from pig respiratory tracts. *Vet Rec.* 1991. 128, 357-358.

Utrera V., Characterization of a low virulence strain of *Actinobacillus pleuropneumoniae*. PhD thesis. Univ Of Minnesota. 1991.

Utrera V; Pijoan C; Villalobos J; Rausseo L; Lopez H; Fuentes D; Bordones A; and Cano J. Field trial to evaluate the efficacy of an autogenous vaccine against *Actinobacillus pleuropneumoniae* containing whole cell and Apx I toxoid. Proc. 16th IPVS Congress. Melbourne, Australia. 2000. p. 66.

Van Overbeke I, Chiers K, Donne E, Ducatelle R, Haesebrouck F. Effect of endobronchial challenge with *Actinobacillus pleuropneumoniae* serotype 10 of pigs vaccinated with bacterins consisting of *A. pleuropneumoniae* serotype 10 grown under NAD-rich and NAD-restricted conditions. *J Vet Med B Infect Dis Vet Public Health.* 2003;50(6):289-93.

Van Overbeke. Characterization of in vivo adhesion of *Actinobacillus pleuropneumoniae* to lung alveoli of pigs. Proc. 18th IPVS Congress. Hamburg, Germany. 2004. p. 14.

Vigre H, Ersboll AK, Sorensen V. Decay of acquired colostral antibodies to *Actinobacillus pleuropneumoniae* in pigs. *J Vet Med B Infect Dis Vet Public Health.* 2003;50(9):430-5

Wilson PJ, Falk G, Klashinsky S. (1987): Detection of *Actinobacillus pleuropneumoniae* Infection in Pigs. *Can Vet J* 28:111-116.

Autor: Vitelio Utrera T., Universidad Central de Venezuela, Facultad de Ciencias Veterinarias. Dpto. de Medicina Poblacional y Susan del Castillo P. Empresa de Diagnóstico Veterinario C.A.