

**ACADEMIA DE CIENCIAS VETERINARIAS  
DE CASTILLA Y LEÓN**

**LA PLEURONEUMONÍA EN EL  
CONTEXTO DEL COMPLEJO  
RESPIRATORIO PORCINO**

**Discurso del**

**Prof. Dr. D. CÉSAR-BERNARDO GUTIÉRREZ MARTÍN**

**Leído en el solemne acto de su recepción pública como Académico  
Correspondiente, celebrado el día 9 de abril de 2014.**



**LEÓN, 2014**



**LA PLEURONEUMONÍA EN EL  
CONTEXTO DEL COMPLEJO  
RESPIRATORIO PORCINO**

**Discurso del**

**Prof. Dr. D. CÉSAR-BERNARDO GUTIÉRREZ MARTÍN**



**ACADEMIA DE CIENCIAS VETERINARIAS  
DE CASTILLA Y LEÓN**

**LA PLEURONEUMONÍA EN EL  
CONTEXTO DEL COMPLEJO  
RESPIRATORIO PORCINO**

**Discurso del**

**Prof. Dr. D. CÉSAR-BERNARDO GUTIÉRREZ MARTÍN**

**Leído en el solemne acto de su recepción pública como Académico  
Correspondiente, celebrado el día 9 de abril de 2014.**

**LEÓN, 2014**

© Universidad de León  
Secretariado de Publicaciones  
© César-Bernardo Gutiérrez Martín

ISBN: 978-84-9773-676-3  
Depósito legal: LE-331-2014  
Impreso en España / *Printed in Spain*  
León, 2014

***Omnia vincit amor.***

*Verso 69 de la Égloga X de "Las Bucólicas", de Virgilio.*

***Labor omnia vincit improbus.***

*Versos de la Égloga I de "Las Bucólicas", de Virgilio.*



## ÍNDICE

De bien nacido...	11
Las enfermedades polimicrobianas .....	15
El complejo respiratorio porcino.....	16
<i>Actinobacillus pleuropneumoniae</i> y pleuroneumonía porcina .....	19
<i>Actinobacillus pleuropneumoniae</i> .....	20
Factores de virulencia.....	25
Epidemiología.....	30
Síntomas clínicos .....	32
Lesiones.....	33
Diagnóstico.....	34
Tratamiento .....	35
Prevención y control .....	36
Otros agentes etiológicos del complejo respiratorio porcino.....	38
<i>Mycoplasma hyopneumoniae</i> y <i>M. hyorhinis</i> .....	38
<i>Bordetella bronchiseptica</i> .....	39
<i>Pasteurella multocida</i> .....	40
<i>Haemophilus parasuis</i> .....	41
<i>Streptococcus suis</i> .....	44
Virus del síndrome respiratorio y reproductor porcino.....	45
Virus Influenza.....	46
Coronavirus .....	48
Virus de la enfermedad de Aujeszky .....	49
Circovirus.....	50
Tratamiento y prevención del complejo respiratorio porcino .....	51
Conclusión.....	53
Bibliografía .....	55



## DE BIEN NACIDO...

Señor Presidente, señor Secretario General, señores miembros de la Junta Directiva de la Academia de Ciencias Veterinarias de Castilla y León, señores Académicos Fundadores, de Honor, de Número y Correspondientes, Sres. Vicerrectores, Sr. Decano, Autoridades, Sres. representantes del Ilustre Colegio Oficial de Veterinarios de León, compañeros todos en esta nuestra profesión veterinaria, amistades, señoras y señores:

Continuando con la sucesión de actos en los que distinguidos colegas han ido tomando posesión de cinco plazas de Académicos de Número y de nueve de Académicos Correspondientes, le cabe hoy el honor a quien ahora comienza a dirigirse a ustedes. Como los que me han precedido en esta tribuna, debo principiar testimoniando mi gratitud más sincera a quienes permiten integrarme en esta muy ilustre corporación, academia que con atinada oportunidad fundaron hace ahora treinta y cinco meses insignes representantes de nuestra profesión, bajo los auspicios de la Junta de Castilla y León, con la colaboración inestimable de nuestra universidad.

Aunque el Dr. Rodríguez Ferri me haya presentado con su gentileza habitual, permítanme ahora que recurra a algún pasaje más personal para engarzar varios agradecimientos inexcusables. En 1968, *el año en que se celebraron los Juegos Olímpicos en México y cuyo mayo parisino sigue aún recordándose*, me incorporé a las Escuelas Anejas a la Escuela Normal de Magisterio, las populares Anejas de la avenida de Asturias, en las que cursé la Enseñanza General Básica, por supuesto en aulas de niños separadas de las de niñas y con el patio de recreo presidido por una verja muy alta, "por si nos mezclábamos". Quede aquí constancia de mi reconocimiento hacia mis primeros maestros en el recuerdo de uno de ellos, D. Elpidio, persona de honda religiosidad y gran longevidad, ya fallecido. En 1977, *cuando el grupo ABBA publicó su quinto disco, denominado "The Album"*, me trasladé al otro extremo de la ciudad, al instituto masculino por excelencia. Del Instituto Padre Isla mencionaré a Mercedes Sampayo, profesora apasionada de las matemáticas, oriunda de La Coruña, felizmente jubilada hace un par de años y con quien sigo manteniendo contacto treinta y cinco años después.

En 1981, año en que las naves voyager se acercaron a las órbitas de Júpiter y Saturno, se produce mi salto a la universidad. Hasta cuarto curso en las instalaciones que ahora nos acogen (concretamente nos encontramos en el paraninfo de la antigua Facultad de Veterinaria) y desde el último trimestre de aquel curso en un edificio "a estrenar" en el Campus de Vegazana, de ladrillo visto y persianas de color naranja chillón, hoy desvaídas y hasta raídas por los veintinueve años que las contemplan. Y desde comienzos de segundo de carrera, ejerciendo como alumno interno, figura honorífica donde las haya (por lo económica que resultaba), hoy en día casi desaparecida. Sucedió en las dependencias de la Unidad de Histología y Anatomía Patológica, dirigida en aquel entonces por el Profesor Escudero Díez y a la que acudí ante la llamada del Profesor Martínez Rodríguez, ahora compañero académico correspondiente por la sección de Historia. Desde aquí mi grato recuerdo para Javier Espinosa, Alfonso, Maica y Ana Bravo.

Mi estancia en Histología y Anatomía Patológica se prolongó durante cinco años, incluido el posterior a la finalización de la licenciatura. Fue tan fructífera mi estancia que obtuve lo mejor que una persona puede conseguir allí por donde transite: dos amistades inquebrantables, María José y Claudia, de ésas que uno sabe con certeza que perdurarán por siempre, así como la de la otra María José, la de Farmacología. Y es que efectivamente en la forja de esta amistad ha resultado imprescindible la incorporación de "diversos principios activos farmacológicos", los que a diario y hacia media mañana permiten evadirme durante algunos minutos de la rutina cotidiana. A todos mis compañeros de Farmacología, mi agradecimiento y la rememoración en un instante de tantos momentos compartidos.

Vaya también el recuerdo para los veintidós animosos jóvenes investigadores que, desde el regreso de Madrid del Prof. Rodríguez Ferri a la facultad que le viera nacer a la profesión veterinaria, han fortalecido el grupo de investigación de patógenos respiratorios porcinos durante los últimos veinticinco años con su trabajo eficaz y entusiasta. Y también para esa cuarentena (y no en sentido sanitario) de compañeros y hasta de amigos que cada martes y jueves, entre las ocho y media y las diez de la noche no sé si

tienen muy claro cómo me alegran musicalmente la vida, entre claves de SOL y de FA.

Pecando de nada original, he dejado para el final, por aquello de la cita evangélica, a mi núcleo familiar más próximo, al que me sigo empeñando en escamotear horas de afecto y dedicación año tras año. A mis padres, Raúl, el camarero omañés que hubo de emigrar a Madrid a trabajar con menos edad que la que ahora tiene mi hija mayor, y a María Luisa, un ama de casa de las de su época, no tengo suficientes palabras para agradecerles que desde su humildad me convirtieran, como se decía antes, en un hombre de provecho. A mis hijas, María y Esther, pero sobre todo a ti, Ana, mi bastión inexpugnable en los momentos óptimos, buenos, regulares, malos y pésimos, qué deciros que no sepáis, si me conocéis mejor que yo mismo. Y por muy extraño que resulte en los tiempos que vivimos, también quiero tenerte presente en estos momentos a Ti, que presides a diario mis desvelos desde un lugar destacado de mi despacho, precisamente ahora, que en once días volverás a resucitar.

A punto de alcanzar el medio siglo de vivencias, he de confesarles que llevo dedicándome a la Inmunología y a la Microbiología, a su docencia y a su investigación, desde aquel inolvidable 1 de febrero de 1988 que supuso un vuelco sin retorno en mi existencia. Alguien que ahora ocupa la mesa presidencial, de una vitalidad y capacidad de trabajo difícilmente superables y amigo como pocos, es "manifiestamente culpable" de ello. Cumplo por tanto en estas lides más de media vida, siempre vinculado a nuestra querida Facultad de Veterinaria de León. En este momento quiero dirigir mi pensamiento hacia los jóvenes de entre dieciocho y veintitantos años y agradecerles que nos sigan eligiendo para encauzarles en sus estudios de Veterinaria, Biotecnología, Biología o Ciencia y Tecnología de los Alimentos, porque sin ellos, no lo olvidemos, nuestra profesión carecería de sentido en su parcela docente. Además, como escuchara en una ocasión al Prof. Suárez Fernández, encomiable Académico Fundador de esta institución, la gran ventaja del profesor es que, aunque envejece, siempre continúa trabajando con alumnos de la misma edad, sin duda la mejor de todas, lo que en cierto modo le rejuvenece.

Desde la finalización de mis estudios, si es que los estudios se pueden concluir en algún instante, mi faceta investigadora se ha centrado principalmente en los microorganismos de origen bacteriano que producen enfermedades respiratorias en el cerdo. Por esta razón he seleccionado este tema como eje de mi conferencia. En la actualidad, estos agentes patógenos respiratorios ya no son considerados de forma individual, sino formando parte de entidades complejas, responsables del establecimiento de las denominadas enfermedades polimicrobianas.

## LAS ENFERMEDADES POLIMICROBIANAS

Desde el siglo XX, muchas de las enfermedades infecciosas ya no se entienden como producidas por un único microorganismo, sino que se alude a complejos multifactoriales, en los que no solo diversos agentes etiológicos, sino también los factores ambientales, junto con la alimentación, la respuesta inmunitaria y la propia genética contribuyen a su desencadenamiento. Dentro de la especie porcina, una de las enfermedades polimicrobianas más relevantes es el complejo respiratorio porcino, en el que se ha implicado una gran cantidad de virus, como el virus del síndrome respiratorio y reproductor porcino, el virus influenza, el virus de la enfermedad de Aujeszky, el coronavirus respiratorio porcino y el circovirus, así como una variada nómina de bacterias, entre ellas, *Mycoplasma hyopneumoniae*, *M. hyorhinis*, *Bordetella bronchiseptica*, *Actinobacillus pleuropneumoniae*, *Pasteurella multocida*, *Haemophilus parasuis* o *Streptococcus suis*. Otros microorganismos han sido también involucrados en este complejo nosológico, aunque con una representación mucho menos frecuente, como sucede con *Escherichia coli* o con *Arcanobacterium pyogenes*.

Se han propuesto hasta cinco mecanismos patogénicos que pueden favorecer este tipo de enfermedades: inicialmente, las alteraciones metabólicas, fisiológicas y físicas, que pueden predisponer al hospedador a su padecimiento. También la alteraciones de la mucosa respiratoria producidas por uno o varios de estos microorganismos, que favorecerá la colonización posterior de los otros. Una tercera causa podría ser la liberación de citoquinas proinflamatorias que aumentarán la gravedad de la enfermedad, reactivarán las infecciones latentes o favorecerán el asentamiento de agentes secundarios. Otro mecanismo podría ser la sinergia entre los propios factores de virulencia de los diferentes microorganismos, lo que les permitiría agravar cuadros que por sí solos no podrían desarrollarse individualmente. Por último, el bloqueo del sistema inmunitario por parte de uno de los agentes facilitaría la colonización de los restantes. En el caso que nos ocupa y, a modo de ejemplo, el virus del síndrome respiratorio y reproductor porcino destruye durante su infección los linfocitos circulantes, al tiempo que reduce los macrófagos alveolares y disminuye el aclaramiento mucociliar habitual de los microorganismos comensales, lo que

facilita la aparición concomitante de enfermedades secundarias de etiología principalmente bacteriana.

## **EL COMPLEJO RESPIRATORIO PORCINO**

En España, el sector porcino representa, según cifras del Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente, el 12,4% de la producción final agraria y en lo que se refiere a importancia económica, ocupa el primer lugar dentro de las producciones ganaderas, con una cuota de participación del 34,2%, por lo que se convierte en el sector más relevante de nuestra ganadería y el que en mayor medida contribuye a la renta regional. Tal importancia se traslada también al plano internacional; dentro del marco comunitario, donde España representa el segundo país de la Unión Europea en producción de carne de porcino, de modo que la cabaña supone el 17,3% del total del censo comunitario. En el ámbito mundial estos datos resultan igualmente destacables, ya que el país se sitúa asimismo a la cabeza de los países productores. Volviendo a nuestra región, Castilla y León totaliza uno de los censos más destacados de ganado porcino de todo el estado español, que se alza hasta el tercer puesto, con aproximadamente 3,5 millones de cabezas, alrededor del 13% del total nacional, solo por detrás de Cataluña y Aragón.

Las cifras anteriores ponen de manifiesto el interés del sector al que va dirigido el tema elegido para esta conferencia, ya que en la actualidad el complejo respiratorio porcino constituye uno de los cuadros clínicos, como indica su denominación, más complejos y de mayor repercusión negativa en la producción de esta especie animal.

El complejo respiratorio porcino representa una entidad nosológica muy frecuente en las explotaciones porcinas intensivas, aunque también en menor grado en las extensivas, que provoca pérdidas económicas cuantiosas a los productores, derivadas de una conversión ineficaz del alimento, lo que determina un retraso cifrado entre dos y tres semanas en la obtención del peso óptimo de sacrificio. Otros estudios han calculado la disminución de la ganancia diaria de peso de los cerdos afectados en casi un 6%. En 1995, el

Sistema Nacional de Salud de los Estados Unidos valoró este proceso como la causa más importante de mortalidad en salas de cría y de engorde. Datos recogidos entre 1990 y 1994 en explotaciones con un estatus sanitario elevado pusieron de manifiesto una prevalencia del 58% de neumonía cuando los animales llegaban al matadero. Se considera que la presentación clínica afecta principalmente a cerdos de engorde, de entre 16 y 20 semanas y de hecho se ha llegado a referir el proceso como la "barrera de las 18-20 semanas", con tasas de morbilidad de hasta el 100% y de mortalidad del 30%. En la actualidad, sin embargo, se sabe que puede afectar a rangos de edad más amplios, comprendidos entre las 8 y las 20 semanas.

La repercusión del complejo respiratorio porcino es meramente económica, ya que no se trata de una zoonosis, excepto en el caso de algunas cepas de *P. multocida*, que podrían contagiarse raramente a las personas a través de mordeduras o por contacto con secreciones nasales, o de *S. suis*. En otra investigación efectuada en Estados Unidos se han calculado en 0,21 dólares las pérdidas por cerdo de engorde, que ascenderían hasta los 1,34 dólares en el periodo de finalización y salida hacia el matadero.

Dee describió el complejo respiratorio porcino en 1996, *el mismo año que se describieron las células precursoras de los mastocitos*. Dentro de la enfermedad, los agentes se dividen en patógenos primarios, capaces de alterar los mecanismos de defensa y de establecerse por sí mismos en el hospedador porcino, y en patógenos oportunistas, que se aprovechan de los factores de virulencia de los anteriores para desencadenar también enfermedad. Dependiendo de las interacciones y la complejidad del proceso, algunos microorganismos pueden comportarse como agentes primarios o secundarios; sin embargo, otros se vinculan inequívocamente con una de las dos categorías. Si las enfermedades ocurren únicamente por el efecto de los primeros, suelen remitir en poco tiempo, pero es cuando se complican con los agentes oportunistas cuando el proceso respiratorio se vuelve más grave y origina pérdidas económicas mucho más cuantiosas.

Entre los agentes primarios habituales se pueden mencionar el virus del síndrome respiratorio y reproductor porcino, el virus influenza, el de la enfermedad de Aujeszky, los coronavirus y los circovirus; entre las bacterias, los micoplasmas, *A. pleuropneumoniae* y *B. bronchiseptica*.

Como es sobradamente conocido, durante los últimos 30 años, se han operado cambios sustanciales en la producción porcina, con explotaciones intensivas dotadas de una gran densidad de población, lo que ha favorecido la difusión de las enfermedades respiratorias. La sobrepoblación, unida a una ventilación insuficiente se convierten en poderosos aliados de un estrés, al que se unen niveles de polvo y amoníaco elevados, que determinan un impacto negativo en los mecanismos defensivos del aparato respiratorio de los animales. Otros factores negativos son el flujo continuo de cerdos y las mezclas procedentes de orígenes y grupos de edad diferentes, lo que agrava aún más la difusión de estas enfermedades. Otro problema añadido es que muchos de los patógenos respiratorios son tan ubicuos que se vuelve difícil encontrar un lote de animales libre de ellos, por lo que no resulta extraño la recirculación continua de varios de ellos en las explotaciones.

Incluso aunque se extremen las condiciones sanitarias al máximo, se produce un momento crítico ante la disminución de la inmunidad materna en los lechones, periodo en el que suelen ser más propensos a contagiarse. Además, la enfermedad puede en ocasiones penetrar en las explotaciones a través de aerosoles, mediante la transmisión por medio de vectores o por la introducción de nuevos animales infectados de forma subclínica. Ante estas últimas circunstancias se pueden originar brotes graves, precisamente en cerdos sanos, por no haber sufrido una exposición previa a cualesquiera de estos agentes.

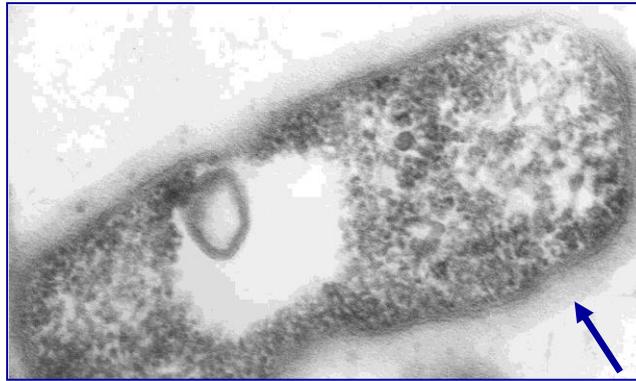
La etiología multifactorial del complejo respiratorio porcino puede variar, no solo entre países, sino entre los diferentes sistemas de producción y dentro de una misma explotación, en diferentes periodos de tiempo. Del conjunto de los diversos agentes enumerados, me centraré en uno de ellos,

considerado claramente un agente primario, estudiado durante años por el grupo de investigación al que pertenezco.

## ***Actinobacillus pleuropneumoniae* Y PLEURONEUMONÍA PORCINA**

*A. pleuropneumoniae* es el agente etiológico de la pleuroneumonía porcina, una enfermedad muy contagiosa, frecuente en las explotaciones intensivas, que durante las últimas décadas ha provocado tasas de morbilidad y mortalidad destacadas en los países con una porcicultura bien desarrollada, lo que se ha traducido en pérdida económicas cuantiosas. Para cifrar la importancia de esta enfermedad basta con indicar que en congresos especializados en el sector porcino, como en el renombrado de la Sociedad Internacional Veterinaria Porcina (IPVS) ha sido durante la década de los noventa la más referenciada en sus resúmenes, en el conjunto de todas las enfermedades porcinas, no ya sólo de las que se circunscriben al aparato respiratorio.

Otro exponente de su relevancia puede venir representado por el número de publicaciones registradas en la base de datos *PubMed*. La primera de ellas data del año 1976 y pertenece a Kilian, uno de los microbiólogos que describió con profusión la bacteria. Se denominó *A taxonomic study of the genus Haemophilus, with the proposal of a new species* y fue publicada en el *Journal of General Microbiology*. Hasta 1990 se registraron 256 publicaciones; en la década de los noventa, el número se elevó hasta las 477; entre 2001 y 2010 se mantuvo en 406 y en lo que ha transcurrido de década de los diez, se pueden contabilizar 151 artículos hasta comienzos del mes de marzo.



*Actinobacillus pleuropneumoniae* (microscopía electrónica de transmisión). La flecha señala la cápsula bacteriana.

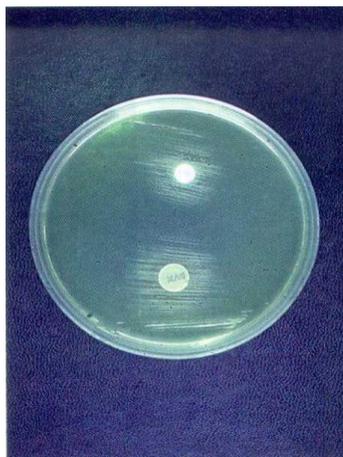
La primera descripción de la pleuroneumonía porcina, a cargo de Olander, se sitúa en Estados Unidos en 1963, año en el que los Beatles en el viejo continente editaban su segundo álbum, "With the Beatles". Un año más tarde se denuncia la enfermedad en Argentina, gracias a Shope. En España la primera referencia debe atribuirse al grupo catalán dirigido por Espuña, en 1986, cuando en nuestro país entraba en vigor el impuesto sobre el valor añadido, más que nada por recordar aquello de que "somos el único animal que paga impuestos", como otro compañero académico afirmase desde este mismo atril el pasado 23 de octubre.

## ***Actinobacillus pleuropneumoniae***

*A. pleuropneumoniae* es un bacilo corto Gram-negativo, que puede presentarse ocasionalmente en parejas o cadenas cortas. Este microorganismo presenta cápsula, es inmóvil al carecer de flagelos y mejora su recuperación en los medios de cultivo con un aporte de una pequeña concentración de CO<sub>2</sub>, por lo que puede ser clasificado como una bacteria anaerobia facultativa, si bien en los subcultivos crece perfectamente en presencia de oxígeno atmosférico. Las bacterias envejecidas en las placas, una vez teñidas y observadas al

microscopio, pueden ofrecer morfologías más alargadas y variables, por lo que ocasionalmente podría describirse como un microorganismo filamentosos.

Resulta habitual que las bacterias cambien de ubicación taxonómica, manteniéndose por lo general la denominación latina de especie pero variando la de género, de acuerdo con la nomenclatura binomial propuesta por Carl von Linné. En el caso que nos ocupa, se han producido ambas modificaciones, de forma que en las primeras descripciones la bacteria era recogida en la bibliografía como *Haemophilus parahaemolyticus* por el estadounidense Olander, basándose en su dependencia de algún factor sanguíneo, mientras que el argentino Shope optó, en función de las lesiones observadas, por el término *H. pleuropneumoniae*, al ocasionar neumonía acompañada de pleuritis fibrinosa. En ambos casos, la adscripción de género se correspondía con uno de los integrados en la familia *Pasteurellaceae*, debido a sus características fenotípicas, en relación con la dependencia para su crecimiento en el laboratorio del factor sanguíneo V (dinucleótido de nicotinamida y adenina, NAD). En 1983, el mismo año que se estrenó "El Retorno del Jedi", la tercera y última película de la saga de "La Guerra de las Galaxias", se redefinió la bacteria con la nomenclatura actual, al comprobarse que la estructura de su ácido desoxirribonucleico compartía una similitud mucho mayor con diversas especies del género *Actinobacillus* que con las del género *Haemophilus*.



**Dependencia de *Actinobacillus pleuropneumoniae* del factor NAD: crecimiento sobre una placa de agar TSA únicamente alrededor de los discos impregnados con este factor**

La idea de que el requerimiento de NAD se mantenía constante en todas las cepas hubo de ser modificada al describirse aislados de *A. pleuropneumoniae* capaces de desarrollarse en el laboratorio en ausencia de este factor. Al objeto de clasificar correctamente ambos tipos de cepas, las que dependían de NAD se adscribieron al biotipo I, mientras que las que no lo precisaban fueron reubicadas dentro del biotipo II.

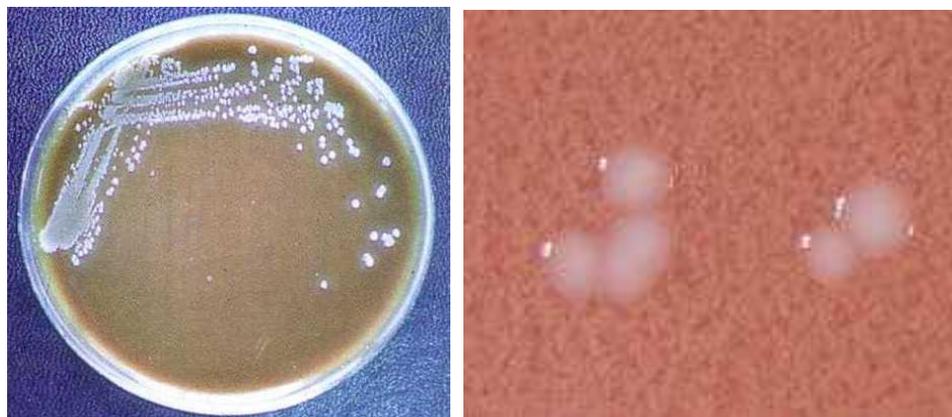
Otra forma de clasificación de esta bacteria se refiere a su comportamiento respecto a sus factores antigénicos, principalmente el lipopolisacárido de su pared Gram negativa, junto con el polisacárido de su estructura capsular. Según este criterio, se han propuesto 15 serotipos. Los doce primeros se describieron con pocos años de intervalo, de modo que ya se conocían en 1986, cuando se denunció la enfermedad por primera vez en España. Buena parte de la descripción de estos serotipos fue efectuada por la Dra. Ragnhild Nielsen, destacada investigadora danesa ya jubilada, que trabajó en el Laboratorio Serológico Veterinario Estatal de Copenhague.

Tuvo que transcurrir un periodo de dieciséis años hasta que se observaran en los aislados clínicos comportamientos diferentes desde un punto de vista serológico, lo que sucedió en Australia, donde se refirieron los tres últimos serotipos (13, 14 y 15) de forma simultánea en 2002, *año del que además podemos recordar que se pusieron en circulación los billetes y monedas de euro en la mayoría de los países de la Unión Europea*. El serotipo 13 de *A. pleuropneumoniae* se ha descrito también en Europa y hace dos años en América del Norte, concretamente en Estados Unidos y Canadá. Por su parte, el serotipo 15 se aisló por primera vez en Japón, en 2007, *precisamente el año dedicado al cerdo según el horóscopo chino*.

Aunando estos dos últimos criterios taxonómicos, biotipos y serotipos, se ha establecido la clasificación actual, que descarta el biotipo II y reconoce únicamente el biotipo I, con la salvedad de la existencia de cepas que no precisan del factor NAD para su crecimiento, adscritas a seis de los serotipos (2, 4, 7, 9, 13 y 14). Resulta importante el conocimiento de los serotipos prevalentes en una zona geográfica determinada, antes de la implementación de programas

de vacunación eficaces, ya que se ha demostrado reiteradamente la inexistencia de protección cruzada entre los diferentes serotipos.

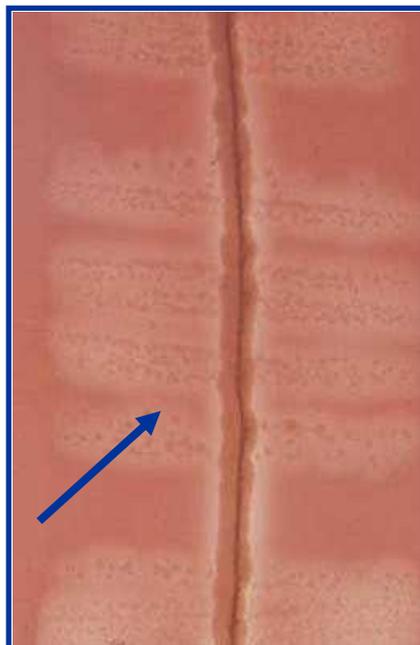
Existen diversos medios de cultivo idóneos para el aislamiento y propagación de *A. pleuropneumoniae* en el laboratorio. Uno de los más utilizados es el agar chocolate, así denominado por el color que resulta del calentamiento de la sangre, normalmente de caballo u oveja, hasta los 80°C, con la consiguiente liberación del factor NAD, que no obstante suele aportarse como suplemento externo junto con aportes vitamínicos y minerales, a fin de garantizar un mejor crecimiento, al tratarse ésta de una especie de difícil multiplicación en comparación con otras. Precisamente por ello y cuando se trata de aislados obtenidos a partir de muestras clínicas, deben incorporarse algunos antibióticos, del tipo de la bacitracina o la cloxacilina, que reduzcan la presencia de microorganismos contaminantes habituales en el aparato respiratorio porcino, normalmente Gram positivos. Las colonias que se obtienen tras una incubación de 24 o mejor 48 horas miden entre 1 y 2 mm de diámetro y son opacas, de una tonalidad blanco-grisácea.



**Crecimiento de *Actinobacillus pleuropneumoniae* sobre una placa con agar chocolate.  
Detalle de las colonias características en la imagen de la derecha**

Otra alternativa de uso común que permite crecimientos más rápidos y que suele emplearse para el subcultivo, es el denominado agar PPLO, al que se recurre asimismo para el crecimiento de otras bacterias de menor tamaño también incluidas dentro del complejo respiratorio porcino, los micoplasmas, carentes de la típica pared celular bacteriana. De nuevo, para obtener un desarrollo bacteriano con garantías, ha de suplementarse con NAD, suero de caballo estéril, extracto de levadura y glucosa. Este medio tan enriquecido permite buenos crecimientos en tan solo seis horas de incubación. Las colonias, de características similares a las anteriores, ofrecen una iridiscencia azulada si se miran al trasluz, lo que pone de manifiesto un buen desarrollo capsular.

También se puede utilizar como medio de cultivo agar sangre de equino u ovino, como sistema de confirmación de las cepas dependientes del factor NAD, ya que después de sembrar la bacteria, se inocula al medio una estría nodriza de un estafilococo productor de este factor, lo que favorece un crecimiento satélite de *A. pleuropneumoniae* únicamente en sus proximidades, acompañado de un cierto grado de hemólisis.



**Crecimiento satélite de *Actinobacillus pleuropneumoniae* en agar sangre a expensas de la estría nodriza de un estafilococo productor de NAD y efecto hemolítico de las colonias satélite**

## **Factores de virulencia**

Todos los serotipos pueden producir la enfermedad pero existen diferencias importantes en cuanto a su virulencia. Se ha descrito una gran variedad de factores de virulencia, aunque no todos han sido estudiados con la misma profusión ni se han demostrado tan relevantes.

En cuanto a las exotoxinas o toxinas secretadas, se han descrito cuatro diferentes, si bien las tres primeras se identificaron casi de forma simultánea, a finales de la década de los ochenta. Se trata de toxinas formadoras de poros, que actúan desorganizando la estructura de las membranas celulares sobre las que actúan, principalmente glóbulos rojos, neutrófilos y macrófagos, hasta producir su destrucción.

Las exotoxinas pertenecen a un grupo relativamente extendido entre las bacterias Gram negativas, las toxinas RTX, así designadas por contener en su estructura repeticiones características de aminoácidos en su secuencia. Combinando esta denominación global con las primeras letras del género y la especie de la bacteria, se acuñó el término Apx para estas toxinas, seguido de números romanos correlativos. Estas toxinas secretadas se encuentran codificadas en cuatro genes continuos, dispuestos en el orden C, A, B y D. El gen A es el responsable de la codificación de la proteína inactiva, que se aloja dentro del citoplasma bacteriano; el gen C se encarga de activar la toxina, normalmente por escisión de un cierto número de aminoácidos. Por último, los genes B y D exportan la toxina activa fuera de la bacteria, para que pueda ejercer su efecto sobre las células blanco. Otra de las características de estas tres primeras exotoxinas es su presencia desigual en los diferentes serotipos. Se ha estudiado su distribución en los doce primeros y suele darse la circunstancia de que, de las tres, un serotipo normalmente presenta un par de ellas.

La toxina ApxI se describió por primera vez en el serotipo 1 y se considera la toxina hemolítica potente, que afecta tanto a los glóbulos rojos como a los neutrófilos y los macrófagos de los alveolos pulmonares. Su peso molecular es de 105 kDa. Se asocia con las cepas más virulentas, de forma que los serotipos que carecen de ella desarrollan cuadros de pleuroneumonía

porcina menos graves que aquéllos otros, como los serotipos 1, 5, 9, 10 y 11, que sí la producen y que originan cuadros graves, con tasas de mortalidad mucho más elevadas.

La toxina ApxII posee el mismo peso molecular que la anterior y se caracterizó inicialmente en el serotipo 2. Si la ApxI es la toxina hemolítica por excelencia, la ApxII representa una toxina hemolítica mucho más débil. Su acción citolítica sobre los neutrófilos y los macrófagos alveolares es también menos pronunciada. Se ha descrito en todos los serotipos comprendidos entre el 1 y el 12, con la excepción del 10.

La toxina ApxIII se diferencia de las anteriores por carecer de actividad hemolítica y por ejercer su efecto únicamente sobre los polimorfonucleares neutrófilos y los macrófagos alveolares. Como la ApxI, se trata también de una toxina citolítica potente. Su peso molecular es semejante al de las dos anteriores y se encuentra presente en los serotipos 2, 3, 4, 6 y 8.

La inducción de un fenómeno de mutación por acción de un transposón, un elemento genético móvil dentro del genoma bacteriano, que constituyó parte de la Tesis Doctoral del Dr. Tascón Cabrero, perteneciente a nuestro grupo de investigación, proporcionó la primera evidencia incuestionable de que las toxinas Apx se encuentran entre los principales factores de virulencia de *A. pleuropneumoniae*. A este respecto, se trabajó con dos mutantes de la cepa CM5 del serotipo 1, uno de los más virulentos y caracterizado por la presencia simultánea de las toxinas ApxI y ApxII. Uno de los mutantes, no hemolítico, no podía producir ninguna de las dos toxinas y resultó prácticamente apatógeno en cerdos inoculados de modo experimental, mientras que el segundo mutante, que producía una hemólisis mucho más débil que la cepa salvaje, al secretar únicamente la toxina ApxII, originaba un cuadro clínico y de lesiones de pleuroneumonía mucho más leve, sin muerte de los animales, que el originado por la cepa silvestre, capaz de matar a los cerdos a dosis relativamente bajas, en torno a  $10^5$  UFC.

Aproximadamente una década más tarde de la descripción de estas tres primeras toxinas se dio a conocer la toxina ApxIV, en 2001, *que puede ser recordado por su declaración como año internacional del diálogo entre civilizaciones*. Se trata de una molécula bastante diferente de las tres anteriores, al encontrarse presente en todos los serotipos descritos en el momento de su publicación, o al tratarse de una proteína que solo se podía expresar en el animal durante el desarrollo de la infección, sin haberse podido llevar a cabo su producción en condiciones de laboratorio. Esta toxina ApxIV vuelve a presentar un efecto hemolítico, pero de carácter débil. Desde el punto de vista antigénico, tampoco guarda relación alguna con las tres primeras. La circunstancia de que aparezca en todos los serotipos permite su utilización como molécula capaz de caracterizar de forma específica *A. pleuropneumoniae*, por lo que se ha utilizado con fines diagnósticos, tanto mediante técnicas inmunoenzimáticas, como el método ELISA, o como mediante la técnica reacción en cadena de la polimerasa (PCR), descrita por Kary Mullis entre 1983 y 1984, e ideada durante un viaje nocturno que efectuó a través de las montañas septentrionales de California.

Otro factor de virulencia también destacado es la cápsula, estructura externa que se localiza inmediatamente por fuera de la pared celular bacteriana Gram negativa. La cápsula presenta una composición diversa en los diferentes serotipos, aunque se trate de un polisacárido en todos los casos. Es la responsable de la típica iridiscencia azulada que aparece en las colonias que crecen en medios de cultivo claros, del tipo del agar PPLO o del agar Levinthal. Su grosor varía entre los 80 y los 230 nm.

Al igual que las exotoxinas, la cápsula ha sido objeto de bastante atención por parte de los investigadores, lo que ha permitido el esclarecimiento de su composición química en los 13 primeros serotipos. Su presencia y su grosor han sido vinculados con la diferente virulencia de los aislados clínicos, hecho que ha sido confirmado comparando cepas salvajes, dotadas de una cápsula bien desarrollada, compacta y bien adherida a la bacterias, con otras cepas mutantes, carentes de ella. Así se puso en evidencia que un aislado clínico del serotipo 5 caracterizado por una cápsula fina, frágil y fácilmente separable del resto de la bacteria era poco virulento y, por tanto, inoculado experimentalmente a cerdos desarrollaba cuadros leves de enfermedad. Sin

embargo, otro aislado, dotado de una cápsula mucho más gruesa, firme y adherida, presentaba una virulencia mucho mayor, por lo que determinaba procesos mucho más graves, con tasas de mortalidad elevadas.

El carácter de factor de virulencia de la cápsula viene determinado por varias de sus funciones. Entre ellas, impide la fagocitosis de la bacteria por parte de los neutrófilos y los macrófagos. Además, impide la deposición de los anticuerpos específicos, básicamente inmunoglobulinas G y M, sobre la superficie de la bacteria, lo que a su vez bloquea el desencadenamiento de la cascada de activación del sistema del complemento por la vía clásica. Por ello, se afirma que las cepas que se encuentran dotadas de una cápsula bien desarrollada son resistentes a la actividad bactericida del suero o, lo que es lo mismo, del complemento porcino, mientras que las cepas mutantes deficientes en material capsular pueden resultar destruidas por este mecanismo, por lo que se afirma que se trata de cepas sensibles a la actividad del suero porcino, al resultar destruidas una vez activado el sistema del complemento.

El lipopolisacárido es un factor de virulencia presente en todas las bacterias Gram negativas, localizado en la membrana externa de su pared celular. Se divide en dos partes: el lípido A, la porción más constante, alojada en la cara exterior de la membrana externa, y la porción polisacáridica externa, en la que a su vez se diferencia el núcleo oligosacárido y las cadenas laterales, integradas por subunidades repetitivas de polisacáridos, que se conocen como cadenas laterales O u antígeno O (somático). Se corresponde ésta con la porción más variable del lipopolisacárido, hasta el punto de que su composición varía entre los diferentes aislados clínicos, razón por la cual reviste carácter antigénico.

El lípido A representa la endotoxina bacteriana, aunque para su funcionamiento precise la estructura completa del lipopolisacárido. Determina en los cerdos la activación del sistema de la coagulación, del sistema del complemento, del sistema fibrinolítico y del sistema del cininógeno. Como consecuencia de ello se puede producir una coagulación intravascular diseminada, acompañada de hemorragias internas, además de hipertermia elevada e inducción de la proliferación de los linfocitos. En la actualidad, se

encuentra suficientemente contrastado que el patrón característico de las lesiones de la pleuroneumonía porcina viene determinado básicamente por la actividad combinada de la endotoxina y las exotoxinas.

Los polisacáridos del lipopolisacárido contribuyen igualmente a la virulencia, al haberse demostrado su condición de adhesinas, con capacidad de unión al moco del aparato respiratorio o directamente a sus células epiteliales, además de impedir la activación del sistema del complemento, al igual que la cápsula.

Otros de los factores de virulencia suficientemente estudiados son las proteínas localizadas en la membrana externa de la pared celular. De entre las diversas que se han descrito, para evitar una descripción excesivamente prolija, se tratarán únicamente las proteínas de unión a transferrina.

El hierro es un oligoelemento que limita el desarrollo de cualquier bacteria. Aunque los microorganismos lo necesitan en cantidades mínimas, el problema radica en que en los animales se encuentra en cantidades ínfimas en forma libre a disposición de las bacterias, en concentraciones mucho menores de las requeridas para su supervivencia. Por ello, *A. pleuropneumoniae* debe adaptarse y disponer de mecanismos que le permitan captar del hospedador, del cerdo en este caso, las cantidades necesarias de hierro que aseguren su subsistencia. A este respecto se han propuesto dos proteínas, no solo en esta bacteria sino también en otras especies próximas, como *H. parasuis*, agente etiológico de la enfermedad de Glässer y otro de los integrantes del complejo respiratorio porcino. Estas proteínas presentan la peculiaridad de que la bacteria intensifica su síntesis cuando ha de crecer en condiciones de escasez de hierro, como sucede en los hospedadores, por lo que permiten la captación del hierro unido a otra proteína, la transferrina. Se designan mediante el acrónimo Tbp (*transferrin-binding proteins*: proteínas de unión a la transferrina), seguidas de las dos primeras letras en mayúscula.

La TbpA es una proteína que atraviesa toda la membrana externa, pertenece al grupo de las porinas y se comporta como un verdadero canal a través del cual difundirá la segunda de estas proteínas, la TbpB, la encargada directamente de la captación del hierro ligado a la transferrina porcina. Por tanto, la TbpB capta la transferrina porcina cargada con el hierro y, dirigiéndose hacia el canal que delimita la TbpA, atraviesa la membrana externa y todo el conjunto de la pared Gram negativa, hasta alcanzar el citoplasma bacteriano. *A. pleuropneumoniae* solo puede captar el hierro de los seres vivos a través de la transferrina porcina. No es capaz de unir la transferrina de ninguna otra especie, por lo que es esta característica la que define precisamente su especificidad estricta de hospedador.

Otros factores de virulencia investigados en esta bacteria son las fimbrias, los pelos y los biofilmes, que se comportan como adhesinas; diversas proteasas secretadas, que destruyen la actina, la gelatina, la hemoglobina o las inmunoglobulinas A y G porcinas, entre otras proteínas; la enzima superóxido dismutasa, que permite a la bacteria escapar de una fagocitosis segura; diversas enzimas de la respiración anaerobia, que aseguran la supervivencia prolongada de la bacteria en las zonas más profundas de las tonsilas en los cerdos portadores asintomáticos, y una potente ureasa, aunque esta enzima haya sido cuestionada como factor de virulencia por algunos investigadores.

## **Epidemiología**

En cuanto a la distribución mundial de los serotipos, en América del Norte se han referenciado principalmente el 1 y el 5; en el cono sur americano, estos dos además del 7; en Asia, el 2 y el 5; en Oceanía, el 1, el 13, el 14 y el 15, mientras que en Europa se ha descrito la prevalencia de los serotipos 1 a 4, 6, 7 y 9. En España se ha puesto de manifiesto el predominio de los serotipos 2, 4 y 7, incluida la presencia de cepas independientes del factor NAD. Nuestro grupo de investigación demostró en 1995, *año de concesión del Premio Cervantes a Camilo José Cela*, la presencia de los 12 primeros serotipos en nuestro país. La mayor o menor difusión de los serotipos se encuentra vinculada lógicamente con el grado de intercambio comercial entre países o incluso entre continentes.

Normalmente, es un único serotipo el que predomina en un brote de pleuroneumonía concreto; no obstante, se han denunciado procesos ocasionados por varios.

El único hospedador natural de la enfermedad es el cerdo doméstico, aunque del jabalí se ha aislado hace cuatro años, en Alemania. La bacteria se asienta en el aparato respiratorio, principalmente en tonsilas y pulmones, y es liberada por las descargas nasales de los animales enfermos. Todas las edades pueden padecer la pleuroneumonía, pero afecta fundamentalmente a los animales que han perdido la protección inmunitaria materna, en coincidencia con su destete e introducción en las naves de cebo, entre las 6 y las 12 semanas de vida.

El contagio es aéreo, por medio de los aerosoles que se generan en las explotaciones intensivas, pero también se puede producir de forma indirecta, a través del instrumental o de las ropas de los operarios; en suma, mediante diversos materiales contaminados por los exudados porcinos. Un aspecto fundamental de la transmisión de la enfermedad viene representado por los portadores asintomáticos o subclínicos, que son animales que han superado la enfermedad pero que mantienen la bacteria acantonada en las tonsilas principalmente, por lo que el riesgo de contagio de cerdos indemnes se vuelve continuo. Aunque *A. pleuropneumoniae* no posee una gran capacidad de supervivencia en el medio ambiente, fuera del hospedador porcino puede prolongarla en el propio moco o en otro tipo de materia orgánica. En el agua a 4°C se han comprobado bacterias supervivientes después de un mes y en un estudio de 2013, *el mismo año del fallecimiento del presidente sudafricano Nelson Mandela*, se puso de manifiesto que la permanencia del microorganismo en el agua de bebida podría estar relacionada con la formación de biofilmes. Congelada a -20°C, la bacteria sobrevive durante más de cuatro meses, como reveló una investigación el año pasado.

Lo mismo que sucedía con el complejo respiratorio porcino en su conjunto, el contagio se ve favorecido por la presencia de condiciones climáticas adversas, como una caída súbita de la temperatura ambiental, tasas de humedad elevadas, una ventilación insuficiente en las explotaciones, la sobrepoblación en las granjas o en los vehículos de transporte, circunstancias todas ellas que pueden exacerbar el estrés de los animales y, por tanto, facilitar la difusión del agente ante la disminución de las defensas orgánicas.

## **Síntomas clínicos**

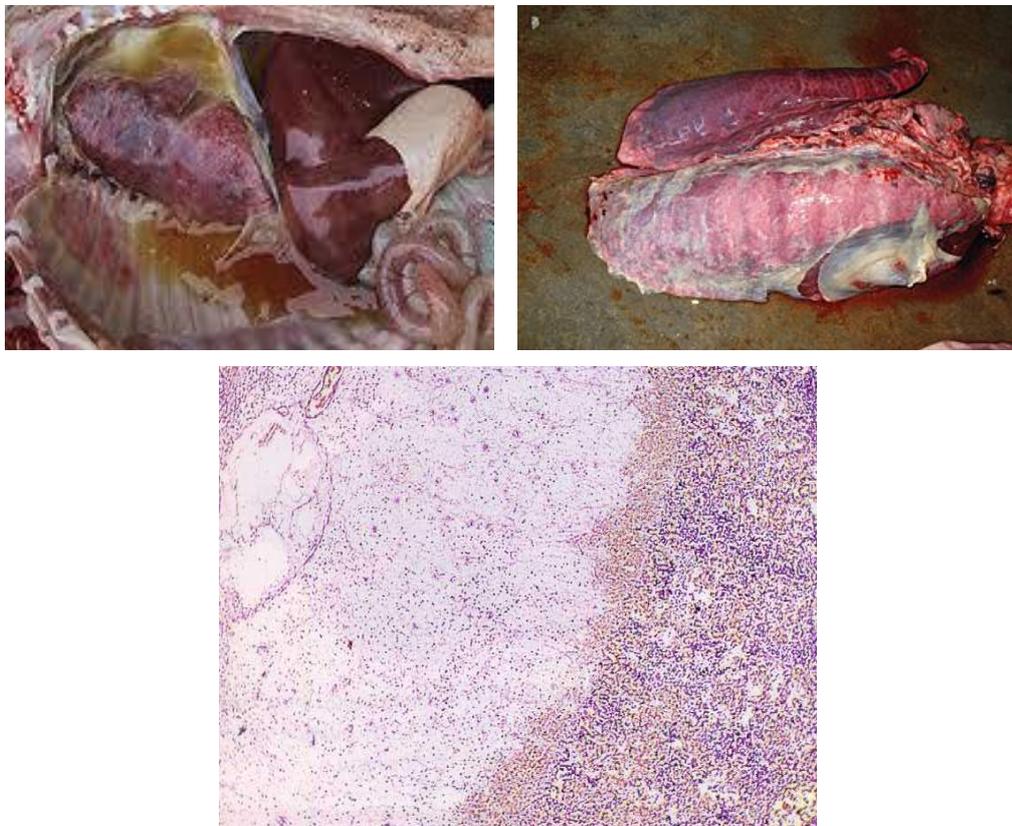
Los síntomas de la pleuroneumonía porcina varían en función de la edad del animal, de su estado inmunitario y de la dosis de exposición al agente. Se han descrito tres cuadros principales: el sobreagudo, el agudo y el crónico. La forma sobreaguda aparece de forma súbita y suele afectar a explotaciones indemnes, sin historia clínica previa. La hipertermia puede alcanzar los 42°C y los animales mueren en pocas horas, por lo que apenas se observan síntomas, como no sea un incremento del ritmo cardíaco, con disnea evidente, respiración abdominal y cianosis de las extremidades. Incluso se puede observar secreción de espuma sanguinolenta a través de la boca y de los orificios nasales. Si el proceso es suficientemente fulminante, puede que no se detecte ninguno de estos síntomas.

La forma aguda permite el desarrollo de una sintomatología más amplia y típicamente respiratoria. La hipertermia es menor, hasta los 41°C. Los síntomas son los comentados, aunque más evidentes, a los que se pueden sumar otros inespecíficos, como la apatía, falta de apetito y de consumo de agua. Si se produce la muerte, que podría afectar hasta al 50% del contingente porcino, suele ocurrir después de varios días, aunque no es extraño que los cerdos puedan evolucionar hacia la forma crónica. En ésta, se observan nuevamente pocos síntomas, en su mayoría inespecíficos, principalmente una hipertermia leve o incluso ausente, acompañada de reducción de la ingesta, poca actividad y, entre las manifestaciones respiratorias, toses esporádicas y respiración abdominal. Esta forma es característica de zonas endémicas, donde

la enfermedad se diagnostica habitualmente y puede complicarse con otros agentes del complejo respiratorio porcino.

## **Lesiones**

Los principales hallazgos anatomopatológicos se localizan en los pulmones, con el desarrollo de una neumonía necrótico-hemorrágica, con nódulos dispersos en mayor o menor medida por el parénquima pulmonar, que se acompaña de una pleuritis serofibrinosa característica y abundante en ocasiones, que provoca la formación de adherencias de la pleura a las paredes costales y al corazón, con presencia de líquido serohemorrágico en la cavidad torácica y de coágulos de fibrina en los bronquios y tráquea. Microscópicamente, los septos alveolares se encuentran distendidos por una abundante cantidad de líquido de edema y se observa el patrón típico de una inflamación, con zonas de necrosis. También aparecen microtrombos.



**Lesiones macroscópicas y microscópicas características de la pleuroneumonía porcina**

## Diagnóstico

El diagnóstico definitivo pasa por la identificación de *A. pleuropneumoniae*, a través del aislamiento o de alguna de las posibilidades de detección más moderna, ya que debe ser diferenciado de otros integrantes del complejo respiratorio porcino, entre otros agentes. El aislamiento en cultivo deberá ir seguido de una identificación bioquímica precisa o de una amplificación de genes específicos mediante la reacción en cadena de la polimerasa. En cuanto a esta última técnica, en un trabajo recientísimo, de diciembre del año pasado, se puso a punto una técnica múltiple, basada en la amplificación específica de la secuencia palindrómica extragenética repetitiva BOX-A1R, que permite la identificación simultánea de tres de los integrantes bacterianos del complejo respiratorio porcino: *A. pleuropneumoniae*, *H. parasuis* y *P. multocida*.

En la bibliografía se ha citado la amplificación de otros genes, entre ellos, el gen *thpA*, que codifica la proteína de unión a transferrina A. Además, nuestro grupo ha comprobado que la combinación de la reacción en cadena de la polimerasa con la digestión del producto resultante con enzimas de restricción posibilita un buen grado de discriminación entre los serotipos, a la vez que permite la diferenciación de las especies próximas. En 2012, *año del bicentenario de la Constitución de Cádiz*, se puso a punto la detección de la bacteria mediante la amplificación del gen que codifica la ApxIV por medio de una PCR cuantitativa a tiempo real.

A lo largo de la historia de la enfermedad se ha descrito una variada nómina de sistemas alternativos de diagnóstico, como la coaglutinación, la aglutinación con partículas de látex, la inmunodifusión radial doble o las técnicas inmunohistoquímicas, entre otros, hoy en día en retroceso frente a las técnicas moleculares. Además de detectar la presencia de la bacteria, resulta fundamental la identificación del serotipo implicado en el brote, dato que nos permitirá obtener información acerca de su gravedad y permitirá la puesta en marcha de medidas de prevención eficaces. Entre los métodos de serotipificación que han ofrecido mejores resultados, al reducir al mínimo las

reacciones cruzadas, figura la propia coaglutinación, junto con la hemaglutinación indirecta.

El diagnóstico de la presencia de anticuerpos específicos resulta útil en la identificación de portadores asintomáticos y para el diagnóstico de la enfermedad en grandes colectividades. Se ha basado en reacciones como la aglutinación en tubo con 2-mercaptoetanol, la fijación del complemento, en la actualidad en desuso, o en diversas modalidades de método inmunoenzimático por excelencia, la técnica ELISA. Estos últimos ensayos no han sido eclipsadas por las técnicas moleculares, sino que continúan revistiendo importancia, como avalan algunas publicaciones de los últimos años, como la que describe un método inmunoenzimático basado en micropartículas fluorescentes para la detección simultánea de inmunoglobulinas G sintetizadas frente a las cuatro toxinas Apx.

## **Tratamiento**

El tratamiento de la pleuroneumonía porcina por vía oral, a través del agua y/o pienso de los animales, solo cobra sentido en las fases iniciales de la enfermedad, cuando los animales aún mantienen normales los hábitos de bebida y alimentación. Su duración debe oscilar entre los cuatro y los siete días. Por eso resulta preferible como vía de aplicación del tratamiento la parenteral. Se recomiendan aplicaciones cada ocho horas durante el primer día y cada doce horas durante los siguientes.

Puesto que se han descrito cepas resistentes es aconsejable la realización previa de un antibiograma. Como antimicrobianos eficaces se pueden mencionar diversos antibióticos  $\beta$ -lactámicos (penicilinas y cefalosporinas), algunos aminoglucósidos y macrólidos, las quinolonas fluoradas y la tiamulina. En algunos casos, también funciona la combinación de trimetoprim + sulfametoxazol. Recientemente, se ha utilizado con buenos resultados el macrólido tulatromicina.

Entre las resistencias referenciadas en la bibliografía, podemos destacar las descritas frente las tetraciclinas, frente a algunas penicilinas (a este respecto, hace dos años se han descrito cepas resistentes a la ampicilina), frente a algunos aminoglucósidos y frente a las sulfamidas, codificadas en la mayor parte de los casos en material genético extracromosómico. El problema de las resistencias se incrementa día a día, como demuestra la circunstancia de que hace cuatro años se haya descrito por primera vez la ineficacia de la enrofloxacin, una quinolona de utilización frecuente en Veterinaria, fenómeno que se ha extendido en 2012 a algunas de las cefalosporinas más modernas. El año pasado se comprobó que cuando las bacterias se protegen dentro de biofilmes resultan mucho más resistentes a los antimicrobianos que cuando se encuentran en forma planctónica.

La antibioterapia resulta eficaz únicamente si es aplicada al comienzo del proceso, ya que un tratamiento instaurado en fases avanzadas, aunque consiga mitigar la sintomatología y evitar las muertes, no evitará las lesiones crónicas ni asegurará la eliminación del microorganismo de las granjas, que se mantendrá por medio de los portadores asintomáticos.

## **Prevención y control**

Ante la necesidad de medidas de prevención, se debe diferenciar entre las explotaciones libres y aquéllas afectadas por la enfermedad. Si las granjas se encuentran libres de pleuroneumonía, se aconsejan medidas estrictas de política sanitaria, como la introducción de cerdos con la garantía absoluta de que no son portadores asintomáticos (lo que se puede averiguar mediante alguno de los métodos serológicos o moleculares comentados), como la utilización de la inseminación artificial o como el establecimiento de métodos de cuarentena.

En las explotaciones afectadas resulta complicada la eliminación del agente por la persistencia de la condición de portador asintomático, por lo que se debe recurrir a condiciones extremas de limpieza y desinfección, así como a la utilización de sistemas de manejo del tipo "todo dentro-todo fuera". Los animales enfermos deben mantenerse aislados hasta su muerte o sacrificio y

deben controlarse todas las condiciones ambientales desfavorables, así como los factores de predisposición ya enumerados.

Respecto a las vacunas, se han preparado muchas formulaciones diferentes, si bien hasta la fecha no se ha encontrado una óptima frente a la pleuroneumonía porcina. Como se ha indicado, las bacterinas o vacunas inactivadas de células completas sólo son eficaces frente al mismo serotipo, por lo que su utilidad se ve bastante restringida. Para paliar esta situación se ha recurrido a la fabricación de bacterinas polivalentes, integradas por los serotipos más prevalentes en una zona geográfica determinada. A pesar de desarrollar una buena inmunidad protectora, fracasan en la prevención de la transmisión de la enfermedad, al no evitar el desarrollo del estado de portador asintomático.

La vacunación suele practicarse entre las 6 y las 8 semanas, para que no interfiera con la inmunidad materna, pero en las explotaciones con una elevada incidencia se recomienda la vacunación de las cerdas gestantes, a fin de obtener una mejor protección inmunitaria en la descendencia. Ante casos muy extremos, se ha sugerido la vacunación de las cerdas reproductoras y un destete precoz, con tan solo dos semanas, al objeto de obtener lechones sanos.

En la actualidad, los esfuerzos se concentran en la búsqueda de antígenos comunes a todos los serotipos que puedan ser utilizados con garantía, bajo la fórmula de vacunas de subunidades, en detrimento de los preparados a base de microorganismos completos. En este sentido, la mayor parte de las disponibles comercialmente contienen las exotoxinas Apx, normalmente combinadas con otros factores de virulencia como los polisacáridos capsulares o algunas de las proteínas localizadas en la membrana externa, como las de unión a transferrina, que actualmente se están prediciendo por medio de estudios bioinformáticos. Suelen funcionar correctamente y protegen mejor frente a diversos serotipos simultáneamente, debido a la coexistencia de las exotoxinas en varios de ellos, pero tampoco evitan el problema de los portadores crónicos. Las últimas publicaciones sobre vacunas formuladas con toxinas Apx de *A. pleuropneumoniae* se refieren a una vacuna administrada por vía oral, consistente en levaduras de la especie *Saccharomyces cerevisiae* que expresaban las

exotoxinas ApxI y ApxII, y a otra inoculada intranasalmente a ratones, basada en una construcción de una cepa atenuada del género *Salmonella* que expresa antígenos de las tres primeras toxinas Apx, junto con proteínas de la membrana externa. Ambas han ofrecido resultados prometedores.

También se está procediendo a la investigación de las denominadas vacunas DIVA, acrónimo en inglés que alude a la posibilidad de diferenciación entre animales vacunados y aquéllos infectados de forma natural (*differentiating infected from vaccinated animals*); a este respecto, puede destacarse que una de las moléculas estudiadas ha sido la exotoxina ApxIV.

## OTROS AGENTES ETIOLÓGICOS

De forma mucho más escueta, se reflejan a continuación algunos datos de los otros agentes etiológicos implicados en el complejo respiratorio porcino.

### *Mycoplasma hyopneumoniae* y *M. hyorhinis*

*M. hyopneumoniae* es considerado un patógeno primario relacionado con la neumonía enzoótica, que carece de la típica pared celular como cualquier micoplasma, y que posee la capacidad de unirse a los cilios y a la superficie de las células epiteliales hasta provocar la aglutinación de los primeros y la muerte de las segundas, lo que favorece el asentamiento de bacterias oportunistas, entre ellas principalmente *P. multocida* y *A. pleuropneumoniae*. También es frecuente su presencia simultánea con el virus del síndrome respiratorio y reproductor porcino. Parece resultar fundamental en la patogénesis la acción sobre los macrófagos alveolares, cuya capacidad fagocítica se encuentra reducida, a lo que se suma un claro efecto de estimulación de linfocitos y de citoquinas proinflamatorias.

Suelen resultar susceptibles cerdos de todas las edades, con una elevada morbilidad, asociada con una tos improductiva, pero una baja mortalidad. La consolidación pulmonar suele concentrarse en los lóbulos apical y cardiaco y suele presentar una tonalidad entre púrpura y grisácea. Como antimicrobianos de elección en el tratamiento, se ha recurrido a tilosina, lincomicina o tiamulina. Se dispone de vacunas inactivadas y de subunidades, pero de dudosa eficacia.



**Pulmón con lesiones de neumonía enzoótica porcina.**

En los últimos años se ha incorporado también *M. hyorhinis* en cuadros de enfermedad respiratoria, de forma independiente o complementaria a la presencia de *M. hyopneumoniae*, describiéndose para él un papel significativo tanto en la neumonía enzoótica como en el complejo respiratorio porcino.

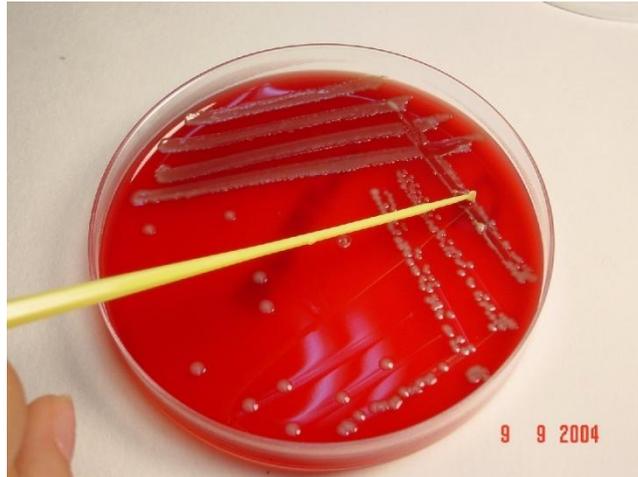
### ***Bordetella bronchiseptica***

*B. bronchiseptica* es una bacteria Gram-negativa cuyas cepas toxigénicas, productoras de una dermonecrotóxina, desencadenan la atrofia de los cornetes nasales con distorsión del hocico normalmente en lechones de unas cuatro semanas, lo que predispone a la infección por cepas toxicogénicas del tipo D de *P. multocida* para producir la forma más grave de la rinitis atrófica. Se desarrolla además una inflamación de la porción superior de la mucosa porcina, con pérdida de los cilios característicos del epitelio. En los animales de mayor edad solo se aprecian cambios ligeros en los cornetes nasales, sin mayores complicaciones. Facilita por tanto la colonización de *P. multocida*, pero también

de *S. suis*, de *H. parasuis* y del virus del síndrome respiratorio y reproductor porcino. Además de la rinitis atrófica, *B. bronchiseptica* también puede desencadenar procesos neumónicos primarios en cerdos recién nacidos y neumonías de carácter secundario en animales de mayor edad.

### ***Pasteurella multocida***

*P. multocida*, también negativa frente a la tinción de Gram, produce junto con la bacteria anterior casos de rinitis atrófica, relacionados con el tipo capsular D, mientras que el A se relaciona con casos de neumonía y en este tipo capsular, este factor de virulencia actúa de forma eficaz evitando la fagocitosis. *P. multocida* suele comportarse como un agente secundario, favorecido por el asentamiento previo en el tracto respiratorio porcino de diversos virus y bacterias, pero especialmente de *B. bronchiseptica*. Son los cerdos jóvenes los que resultan más vulnerables a la rinitis atrófica producida por las cepas toxicogénicas; no obstante, los animales de cualquier edad carentes de inmunidad pueden verse afectados. Esta bacteria puede aislarse con relativa facilidad de la mucosa respiratoria de cerdos sanos, especialmente de sus tonsilas, lo que redundaría en la idea de que se trata de un microorganismo secundario, lo que no ha impedido la observación de casos de bronconeumonía grave, acompañados a menudo de pleuritis, asociados únicamente con cepas de los tipos capsulares A ó D, por lo que hay autores que tampoco descartan el carácter de patógeno primario de esta bacteria integrante del complejo respiratorio porcino.



**Colonias típicamente mucosas de *P. multocida*, con aspecto similar a gotas de rocío, que no se despegan con facilidad del asa de siembra, debido al gran contenido en ácido hialurónico de la cápsula bacteriana.**

### ***Haemophilus parasuis***

Es una bacteria Gram-negativa de la familia *Pasteurellaceae*, agente etiológico de la enfermedad de Glässer, que cursa con poliserositis generalizada, peritonitis entre serofibrinosa y seropurulenta, pleuritis, pericarditis, meningitis y poliartritis, además de neumonía. Más raramente, se han citado casos de miositis de los músculos maséteros. Entre los síntomas, aparece fiebre, anorexia, articulaciones inflamadas con cojera y alteraciones del sistema nervioso central. Se han descrito 15 serotipos mediante una técnica de inmunodifusión radial, así como una gran cantidad de cepas no clasificables, aunque no se ha podido establecer una relación tan estrecha entre el serotipo y la virulencia como sucede en *A. pleuropneumoniae*. Aún así, el serotipo 5 es considerado uno de los más virulentos y uno de los más estudiados en las diferentes pruebas experimentales. Junto con él, los serotipos 1, 10, 12, 13 y 14 suelen considerarse muy virulentos; de moderada virulencia lo serotipos 2, 4 y 15 y normalmente poco o nada virulentos los serotipos 3, 6, 7, 8, 9 y 11.



**Enfermedad de Glässer: artritis desarrollada por *H. parasuis*.**

Los lechones son colonizados en el momento del nacimiento, a partir de las madres, por lo que no todas las cepas son virulentas; de hecho, se aíslan habitualmente de la mucosa nasal y/o del área tonsilar. Por esta razón, para llevar a cabo estudios experimentales que garanticen que los recién nacidos no han tenido contacto con el agente y que, por tanto, carecen de respuesta inmunitaria que pudiera interferir en los resultados, se ha propuesto como modelo la utilización de cerdos privados de calostro porcino, que son alimentados como alternativa con el derivado lácteo pasteurizado de la especie bovina durante las primeras semanas de vida.

El conocimiento de los factores de virulencia es todavía relativamente escaso. Se sabe que *H. parasuis* coloniza e inicia la infección mediante la adherencia e invasión de las células epiteliales, que mediante la degradación de la inmunoglobulina A se evade del sistema de inmunidad innata y que resiste a la fagocitosis por macrófagos y a la actividad bactericida del complemento. Las cepas virulentas son capaces de producir biofilmes *in vitro*, lo que no logran o con dificultad las cepas no virulentas, relacionándose este hecho, probablemente, con la colonización de las mucosas. La adhesión e invasión de las células epiteliales puede ser importante en las primeras fases de la colonización, induciendo apoptosis en las células del epitelio traqueal mediante la activación de la vía de caspasas, lo que puede contribuir a la producción de daño en la mucosa traqueal. La producción de cápsula probablemente bloquea la fagocitosis por los macrófagos alveolares en el pulmón cuya activación se ralentiza como consecuencia de la infección con escaso rendimiento fagocítico, lo que favorece la persistencia bacteriana y la multiplicación pulmonar.

También se ha descrito capacidad de invasión, por parte de las cepas virulentas, en las células endoteliales lo que probablemente contribuya a la infección sistémica, conjuntamente con la resistencia al complemento, permitiendo el desarrollo de poliserositis y poliartritis. Nuestro grupo ha descrito también el sistema de captación de hierro en base a la disponibilidad de proteínas receptoras de transferrina y sideróforos.



**Enfermedad de Glässer: pericarditis fibrinosa.**

Se han referido en la bibliografía asociaciones con el virus de Aujeszky y con el del virus del síndrome respiratorio y reproductor porcino. Como compuestos antimicrobianos de elección, nos podemos referir a las penicilinas, tetraciclinas o sulfamidas, que deberán ser administradas en el comienzo del proceso para que resulten eficaces. Con las vacunas sucede una situación similar a la planteada en *A. pleuropneumoniae*: se han llevado a cabo numerosos intentos, que normalmente producen una buena protección frente al serotipo homólogo pero de resultados mucho más irregulares en cuanto a la protección del resto de serotipos no incorporados a la formulación.

## *Streptococcus suis*

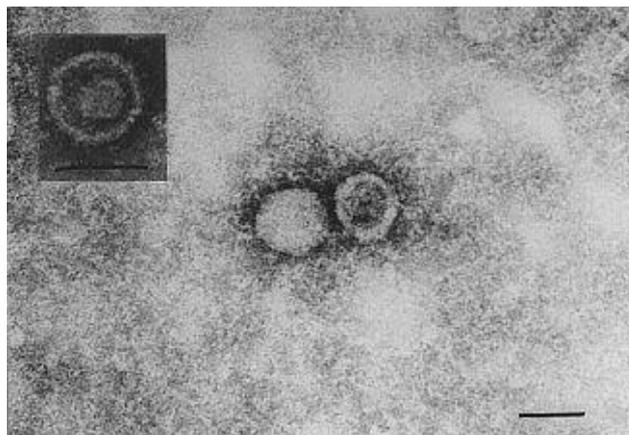
*S. suis* es la única bacteria Gram-positiva que integran dentro del complejo respiratorio porcino la mayoría de los investigadores, aunque también se pueden enumerar otras, con menor relevancia, como *Arcanobacterium pyogenes*. *S. suis* se localiza habitualmente en las tonsilas y en la cavidad nasal porcina, aunque produce esporádicamente enfermedades respiratorias. De la gran variedad de tipos capsulares descritos, en torno a 35, el tipo 2 es el más frecuente en los animales enfermos, con prevalencias de hasta el 90%, seguido por los serotipos 1, 9 y 1/2 (que comparte ambos), que aglutinan el 70% de los aislamientos en algunos casos. También se comporta como un agente secundario, que se encuentra como portador asintomático, pero que puede exacerbarse ante virus como el del síndrome respiratorio y reproductor porcino o bacterias como *B. bronchiseptica*. En cuanto a la sintomatología, se asocia con meningitis fibrinopurulenta, artritis, septicemias y bronconeumonías supurativas en cerdos de todas las edades, además de con casos esporádicos de endocarditis, abortos o muertes en recién nacidos. La mayoría de los aislados se muestran sensibles a la penicilina o a la ampicilina.



**Colonias de *S. suis* sobre agar sangre (izquierda) y típicas cadenas de cocos observadas mediante microscopía electrónica (derecha).**

## **Virus del síndrome respiratorio y reproductor porcino**

El virus del síndrome respiratorio y reproductor porcino es un miembro de la familia *Arteriviridae* (con ARN monocatenario, con simetría icosaédrica y envoltura), que fue descrito por primera vez en Estados Unidos en 1987, *el mismo año que se realizó el trasplante simultáneo de dos pulmones*, y puede producir ambos tipos de cuadros clínicos. Se trata del virus aislado con más frecuencia del complejo respiratorio porcino y se ha comprobado que su gravedad se ve incrementada por la presencia de *M. hyopneumoniae*. A pesar de haberse efectuado numerosos intentos por controlar su extensión, la enfermedad resulta endémica en numerosos países, lo que ocasiona un problema económico de una magnitud considerable.



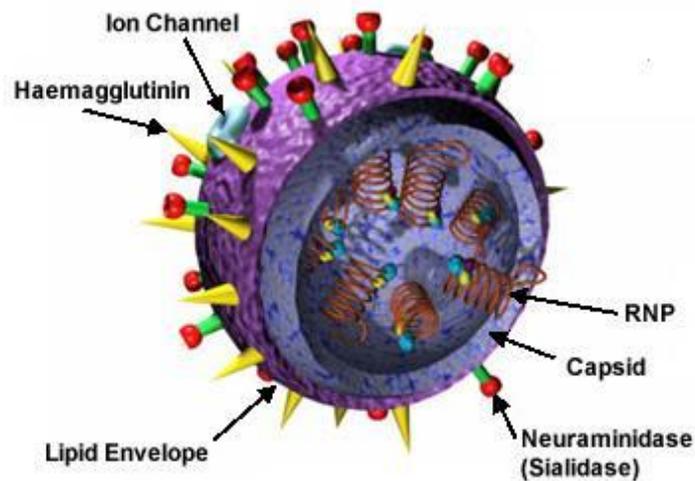
**Virus del síndrome respiratorio y reproductor porcino (microscopía electrónica de transmisión).**

Después de su penetración oronasal, se replica en los macrófagos y las células dendríticas de las tonsilas, en las porciones superiores del aparato respiratorio y en los pulmones, de forma que entre las seis y las doce horas posteriores ya se ha instaurado la viremia, que se mantiene durante varias semanas, después de su replicación en gran variedad de órganos, como los pulmones, ganglios linfáticos, bazo, timo o corazón. Junto con el cerdo, también se ha aislado del jabalí. El virus, muy infeccioso, se excreta a través de la saliva, semen y heces. La principal vía de transmisión se produce por vía aérea. La

inmunidad materna no se prolonga más de entre cuatro y diez semanas, momento en que los cerdos se vuelven más vulnerables a la enfermedad, especialmente si la granja se encuentra afectada de forma endémica. Existen en el mercado algunas vacunas, pero que no ofrecen una protección eficaz en todos los casos.

## **Virus influenza**

El virus influenza porcino pertenece a la familia *Orthomyxoviridae* (con ARN monocatenario, con simetría helicoidal y envoltura) y la enfermedad se conoce desde 1918, *curiosamente el mismo año que nació Nelson Mandela, ya recordado en esta conferencia por su fallecimiento*. Se describió en coincidencia con una gran pandemia de gripe humana. Los aislados porcinos pertenecen al género *Influenzavirus A* y como proteínas de superficie se han descrito 15 hemaglutininas (H1 a H15) y 9 neuraminidasas (N1 a N9). Entre las poblaciones porcinas resultan endémicos los subtipos H1N1 (de hecho, en los Estados Unidos, hasta 1998 los brotes estaban producidos casi exclusivamente por este subtipo vírico) y H3N2, aunque en Japón se han relacionado brotes con el subtipo H1N2. En 1999, *el año en que se estrenó la primera precuela de la saga de la "Guerra de las Galaxias"*, se describió en Canadá el tipo H4N6 que saltó la barrera de especie desde las aves, aunque no se mantuvo. En España se ha descrito recientemente una gran prevalencia de cepas de los subtipos H1N1, H1N2 y H3N2. Hoy en día está suficientemente demostrado que la emergencia de pandemias en el ser humano se relaciona precisamente con la transferencia de subtipos virulentos desde la especie porcina a la humana.



**Influenzavirus porcino tipo A.**

El comienzo de la enfermedad porcina es súbito, normalmente con elevada morbilidad y escasa mortalidad. La forma principal de difusión es a través de las secreciones nasofaríngeas. Su papel en la patogénesis del complejo respiratorio no queda tan clara como en otros casos, aunque la lesión en los cilios de la mucosa podría favorecer las infecciones bacterianas secundarias posteriores. El virus se multiplica en el epitelio nasal, en la tráquea y en los bronquios y puede complicarse con micoplasmas o con el virus del síndrome respiratorio y reproductor porcino. Da lugar a una neumonía difusa, multifocal, con áreas jaspeadas, de tonalidad rojo oscuro, que pueden llegar a afectar a la totalidad del pulmón, pero que tienden a concentrarse en los lóbulos apicales y cardiacos. Se dispone de vacunas que pueden resultar eficaces siempre que incorporen los subtipos víricos implicados en los brotes que pretenden prevenirse.

## Coronavirus

Los coronavirus respiratorios forman parte de la familia *Coronaviridae* (con ARN monocatenario, pleomórficos y con envoltura) y constituyen una variante del virus de la gastroenteritis transmisible. Se replican inicialmente en el epitelio de la porción superior del aparato respiratorio para invadir posteriormente los epitelios bronquial y bronquiolar, hasta alcanzar las regiones alveolares. Suele aislarse en combinación con los influenzavirus y el virus del síndrome respiratorio y reproductor porcino, lo que puede aumentar la susceptibilidad a los procesos bacterianos secundarios. Las explotaciones porcinas pueden resultar seropositivas sin manifestarse sintomatología respiratoria alguna. La virulencia de los coronavirus es muy variable: se han descrito aislados apatógenos o escasamente patógenos, mientras que otros originan enfermedades graves en las explotaciones porcinas. Las lesiones consisten en una neumonía broncointersticial, con numerosos focos de consolidación a lo largo del parénquima pulmonar. Los cerdos más propensos a contraer la enfermedad son los de edades comprendidas entre las cinco y las ocho semanas, a pesar de que aún mantengan parte de la protección inmunitaria pasiva obtenida a través de las madres.



**Coronavirus respiratorios (microscopía electrónica de barrido).**

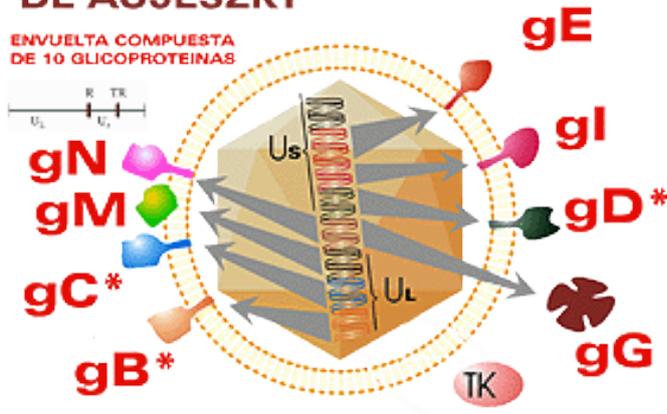
## **Virus de la enfermedad de Aujeszky**

El virus de la enfermedad de Aujeszky pertenece al género *Varicellovirus* (con ADN, simetría icosaédrica y envoltura) y más concretamente al herpesvirus porcino tipo 1. Afecta tanto al sistema nervioso como al respiratorio, pero puede desencadenar igualmente abortos. En el aspecto respiratorio, lesiona los cilios de la porción superior, se asienta en nasofaringe y tonsilas desde donde difunde a los ganglios linfáticos regionales y al sistema nervioso a lo largo de los axones de los nervios craneales. Todo ello favorece el posterior asentamiento de varias de las bacterias asociadas al complejo respiratorio porcino. La transmisión suele suceder por vía aérea y se contagia con rapidez a cerdos de todas las edades.

El virus se replica en los macrófagos alveolares, lo que interfiere con la función fagocítica y es eliminado a través de las secreciones oronasales, del semen y de la leche. Como síntomas típicamente respiratorios, puede aparecer rinitis con estornudos y descargas nasales que pueden evolucionar hacia neumonía con tos y disnea. Entre las lesiones, se ha descrito rinitis fibrinonecrótica, tonsilitis, laringitis, traqueítis y neumonía caracterizada por la presencia de edema pulmonar, hemorragias y focos de necrosis. Sin embargo, no resulta extraño que no aparezcan lesiones macroscópicas en los cerdos de engorde, como también resulta relativamente frecuente la presencia de un estado de latencia durante el que el virus se acantona en las tonsilas y en los ganglios del nervio trigémino. Se dispone de una variada posibilidad de vacunas, desde las más clásicas, como las inactivadas o las vivas modificadas, hasta las modificadas genéticamente, entre la que destaca aquélla que contiene el virus al que se le ha retirado el gen que codifica la enzima timidinquinasa, de forma que el virus mutado no puede replicarse en las neuronas, por lo que su virulencia se reduce sustancialmente, pero sí genera un cierto grado de inmunidad protectora.

## EL VIRUS DE LA ENFERMEDAD DE AUJESZKY

ENVUELTA COMPUESTA DE 10 GLICOPROTEINAS



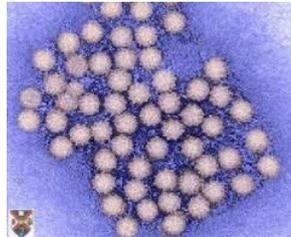
## HERPESVIRUS PORCINO TIPO I alfa-herpesvirinae

### Circovirus

Los circovirus son virus pequeños con ADN monocatenario, con simetría icosaédrica y desnudos, integrados en la familia *Circoviridae*, asociados inicialmente con el denominado temblor congénito infeccioso y con el síndrome caquetizante multisistémico del destete, identificado por primera vez en Canadá en 1991, el año en que Robert Gallo decide retirar las demandas interpuestas a Luc Montagnier sobre su prioridad en el descubrimiento del virus del SIDA. Los circovirus también pueden integrarse dentro del complejo respiratorio porcino como agente normalmente primario, que da origen a cuadros de neumonía crónica, con morbilidades bajas en las explotaciones, pero con mortalidades que pueden llegar a situarse en el 10% en los brotes más graves. El circovirus involucrado es el circovirus porcino tipo 2, muy extendido entre la población porcina mundial y que fue inicialmente identificado como un agente semejante a los picornavirus contaminantes de las líneas celulares PK-15 de riñón porcino.

La enfermedad suele afectar a animales de seis meses de edad, que presentan pérdida de peso, disnea y tumefacción de los ganglios linfáticos. La lesión pulmonar suele consistir en una neumonía intersticial de intensidad variable. Pueden presentarse asociados con otros virus, habitualmente con el del síndrome respiratorio y reproductor porcino y asimismo con *M.*

*hyopneumoniae*. No se dispone de vacuna frente a este virus y su resistencia a los detergentes y otros desinfectantes tampoco convierte en tarea fácil su eliminación de las explotaciones.



**Circovirus (microscopía electrónica de transmisión).**

## **TRATAMIENTO Y PREVENCIÓN DEL COMPLEJO RESPIRATORIO PORCINO**

Al tratarse de una etiología multifactorial, resulta difícil poner en práctica un tratamiento eficaz, que dependerá lógicamente de cada sistema de producción concreto. Se deben centrar los esfuerzos en la realización de diagnósticos colectivos, no individuales, en cualquier caso certeros, ya que muchos de los síntomas y las lesiones son similares en los diferentes patógenos que integran el complejo respiratorio porcino. Han de basarse en aislamientos en cultivo, métodos inmunohistoquímicos, métodos serológicos o técnicas de PCR. En ocasiones, puede resultar complicado identificar los patógenos que inician los cuadros neumónicos, una vez que se ponen de manifiesto los síntomas clínicos asociados a los agentes secundarios u oportunistas.

Si los brotes son agudos, puede ser precisa una terapia antibiótica para controlar la enfermedad, pero no suelen resultar frecuentes los tratamientos individuales, a no ser que solo se encuentre afectado un número reducido de animales en la explotación. Por eso es preferible medicar la comida o el agua de bebida. En cuanto a la utilización de antibióticos, no se debe olvidar el problema de las resistencias antimicrobianas, que se transmiten a gran

velocidad entre microorganismos y que pueden generar fallos en los tratamientos. Como complemento a la actividad antibiótica, diversos investigadores españoles han demostrado en 2013 la eficacia de una solución oral de un antiinflamatorio no esteroideo, el ketoprofeno administrado junto con el agua de bebida, al menos en los casos menos graves del complejo respiratorio porcino.

Otra forma de controlar la enfermedad es la vacunación, como hemos ido viendo para cada agente concreto, que debe ser valorada en términos económicos, en función de las pérdidas que sufra la explotación. Dependiendo de los microorganismos implicados, la elección de la vacuna puede resultar crítica, ya que la eficacia no es similar frente a todos los integrantes del complejo respiratorio porcino. También resulta importante el momento de la vacunación, ya que los cerdos deben encontrarse protegidos cuando se produzca el brote de enfermedad. En ciertos casos, las vacunas pueden prevenir los síntomas clínicos de ciertos patógenos, pero no evitar su colonización, por lo que no impedirán el asentamiento de patógenos oportunistas o secundarios.

Tan críticas o más resultan las prácticas de manejo adecuadas. Deben evitarse los excesos de sobrepoblación en las granjas, la ventilación escasa y debe controlarse la temperatura a fin de que no sufran lesiones mecánicas los epitelios respiratorios porcinos, lo que facilitaría el asentamiento de los microorganismos, como se ha ido indicando de forma reiterada. Tampoco deben mezclarse cerdos de orígenes diferentes, sino que deben encontrarse separados por fases de producción, se deben practicar los sistemas de manejo todo-dentro, todo-fuera, con limpieza y desinfección eficaces de las instalaciones en los momentos en que las salas se encuentran vacías y, naturalmente, antes de la introducción de nuevos lotes porcinos.

## CONCLUSIÓN

Con toda probabilidad, la industria porcina continuará desarrollándose de acuerdo con una progresión geométrica, a un ritmo que difícilmente puede ser controlado por las autoridades veterinarias. El complejo respiratorio porcino representa uno de los problemas más importantes de la industria porcina intensiva mundial, aunque la gran variedad de microorganismos patógenos involucrados varíe entre granjas, lugares geográficos e incluso en diferentes momentos dentro de una misma explotación. Puede producirse una gran variedad de interacciones entre estos patógenos, de forma que la premisa de que la enfermedad primaria es producida por un virus, al que se suman bacterias oportunistas secundarias no tiene por qué cumplirse necesariamente en este orden, ya que los efectos sinérgicos pueden llegar a resultar muy complejos entre los microorganismos, sin que debamos olvidar los factores ambientales, los genéticos y los relacionados con la propia alimentación. Por todo ello, y aunque se haya avanzado sustancialmente en las dos últimas décadas en el esclarecimiento de muchos de los aspectos que condicionan este proceso de tanta repercusión en la Sanidad Animal porcina, se requieren aún muchas investigaciones para profundizar en aspectos relacionados con la patogénesis y con la puesta en marcha de una prácticas óptimas de bioseguridad que garanticen el control de estos brotes respiratorios multifactoriales.

No olvidemos, por último, que aunque esta enfermedad polimicrobiana carece hasta ahora de implicaciones zoonóticas de consideración, el ritmo de crecimiento de la industria porcina es probable que a no muy largo plazo determine, también para el complejo respiratorio porcino, la emergencia de cada vez más cepas patógenas con potencial de ser transmitidas a las personas. Un ejemplo de ello es el contagio del virus Nipah en el sudeste asiático que, si bien es cierto que no forma parte de la enfermedad tratada en esta tarde de primavera, ya en los prolegómenos de la Semana Santa, no lo es menos que se está denunciando un aumento de la presencia de cepas chinas de *S. suis* con un destacado potencial zoonótico, lo que nos debe alertar sobre el establecimiento de medidas de vigilancia y política sanitaria cada vez más rigurosas, en

evitación de que en un futuro próximo el complejo respiratorio porcino se convierta en una entidad zoonótica digna de atención.

Muchas gracias por su atención y, sobre todo, por su paciencia.

## BIBLIOGRAFÍA

- Anonymous. 2012. Ampicillin-resistant *Actinobacillus pleuropneumoniae* in pigs. *Vet. Record* **170**: 667-670.
- Assavacheep, P. & Rycroft, A.N. 2013. Survival of *Actinobacillus pleuropneumoniae* outside the pig. *Res. Vet. Sci.* **94**: 22-26.
- Baratelli, M.; Córdoba, L.; Pérez, L.J.; Maldonado, F.; Fraile, L.; Núñez, J.I.; Montoya, M. 2013. Genetic characterization of influenza A viruses circulating in pigs and isolated in north-east Spain during the period 2006-2007. *Res. Vet. Sci.* doi: 10.1016/j.rvsc.2013.12.006.
- Blackall, P.J.; Turni, C. 2013. Understanding the virulence of *Haemophilus parasuis*. *Vet. J.* **198**: 549-550.
- Blanco, M.; Gutiérrez, C.B.; Ferri, E.F.R.; Roberts, M. & Navas, J. 2005. Tetracycline resistance plasmids in *Actinobacillus pleuropneumoniae*. *Plasmid* **53**: 79-80.
- Blanco, M.; Gutiérrez Martín, C.B.; Rodríguez Ferri, E.F.; Roberts, M.C. & Navas, J. 2006. Distribution of tetracycline resistance genes in *Actinobacillus pleuropneumoniae* isolates from Spain. *Antimicrob. Agents Chemother.* **50**: 702-708.
- Blanco, M.; Kadlec, K.; Gutiérrez Martín, C.B.; Martind de la Fuente, A.J.; Schwarz, S. & Navas, J. 2007. Nucleotide sequence and transfer properties of two novel types of *Actinobacillus pleuropneumoniae* plasmids carrying the tetracycline resistance gene *tet(H)*. *J. Antimicrob. Chemother.* **60**: 864-867.
- Bouchet, B.; Vanier, G.; Jacques, M.; Auger, E.; Gottschalk, M. 2009. Studies on the interactions of *Haemophilus parasuis* with porcine epithelial tracheal cells: limited role of LOS in apoptosis and proinflammatory cytokine release. *Microb. Pathog.* **46**: 108-113.
- Brockmeier, S.L.; Register, K.B.; Magyar, T.; Lax, A.J.; Pullinger, G.D.; Kunkle, R.A. 2002. Role of the dermonecrotic toxin of *Bordetella bronchiseptica* in the pathogenesis of respiratory disease in swine. *Infect. Immun.* **70**: 481-490.
- Buetner, F.F.; Konze, S.A.; Maas, A. & Gerlach, G.F. 2011. Proteomic and immunoproteomic characterization of a DIVA subunit vaccine against *Actinobacillus pleuropneumoniae*. *Proteome Sci.* **9**: 23.
- Cerdà-Cuellar, M.; Aragón, V. 2008. Serum-resistance in *Haemophilus parasuis* is associated with systemic disease in swine. *Vet. J.* **175**: 384-389.
- Costa-Hurtado, M.; Aragón, V. 2013. Advances in the quest for virulence factor of *Haemophilus parasuis*. *Vet. J.* **198**: 571-576.
- Cheng, X.; Xu, Z.; Li, L.; Chen, H. & Zhou, R. 2012. Identification of conserved surface proteins as novel antigenic vaccine candidates of *Actinobacillus pleuropneumoniae*. *J. Microbiol.* **50**: 978-986.
- Chiers, K.; De Waele, T.; Pasmans, F.; Ducatelle, R.; Haesebrouck, F. 2010. Virulence factors of *Actinobacillus pleuropneumoniae* involved in colonization, persistence and induction of lesions in its porcine host. *Vet. Res.* **41**: 65. doi: 10.1051/vetres/2010037 Epub 2010 Jun 15.
- Cho, W.S. & Chae, C. 2001. Genotypic prevalence of *apxIV* in *Actinobacillus pleuropneumoniae* field isolates. *J. Vet. Diagn. Invest.* **13**: 175-177.

- De Bruin, M.G.; Samsom, J.N.; Voermans, J.J.; van Rooij, E.M.; De Visser, Y.E.; Bianchi, A.T. 2000. Effects of a porcine reproductive and respiratory syndrome virus infection on the development of the immune response against pseudorabies virus. *Vet. Immunol. Immunopathol.* **76**: 125-135.
- de la Puente Redondo, V.A.; García del Blanco, N.; Gutiérrez Martín, C.B.; Navas Méndez, J. & Rodríguez Ferri, E.F. 2000. Detection and subtyping of *Actinobacillus pleuropneumoniae* strains by PCR-RFLP analysis of the *tbpA* and *tbpB* genes. *Res. Microbiol.* **151**: 669-681.
- Dee, S.A. 1996. The porcine respiratory disease complex. Are subpopulations important? *J. Swine Health Prod.* **4**: 147-149.
- Dhama, K.; Verma, A.K.; Rajagunalan, S.; Deb, R.; Karthik, K.; Kapoor, S.; Mahima, S.; Tiwari, R.; Panwar, P.K., Chakraborty, S. 2012. Swine flu is back again: a review. *Pak. J. Biol. Sci.* **15**: 1001-1009.
- Eamens, G.J.; Gonsalves, J.R.; Whittington, A.M. & Turner, B. 2012. Evaluation of serovar-independent ELISA antigens of *Actinobacillus pleuropneumoniae* in pigs following vaccination or experimental challenge with respiratory pathogens and natural *A. pleuropneumoniae* serovar 1 challenge. *Aust. Vet. J.* **90**: 490-498.
- Ellis, J. 2014. Porcine circovirus: a historical perspective. *Vet. Pathol.* **51**: 315-327.
- España, E.; Costa, Ll.; Riera, P. & Casadevall, P. 1986. Estudio de la efectividad de tres vacunas contra la pleuroneumonía porcina mediante infección experimental. *Med. Vet.* **3**: 385-390.
- Frandoloso, R. 2011. *Estudios moleculares e inmunobiológicos de la proteínas TbpA (receptor de transferrina) de Haemophilus parasuis y de otras proteínas de membrana externa con afinidad por la transferrina porcina*. Tesis Doctoral. Universidad de León.
- Frandoloso, R.; Martínez, S.; Rodríguez Ferri, E.F.; García Iglesias, M.J.; Pérez Martínez, C.; Martínez Fernández, B.; Gutiérrez Martín, C.B. 2011. Development and characterization of protective *Haemophilus parasuis* subunit vaccines based on native proteins with affinity to porcine transferrin and comparison with other subunit and commercial vaccines. *Clin. Vaccine Immunol.* **18**: 50-58.
- Frandoloso, R.; Martínez Martínez, S.; Gutiérrez Martín, C.B.; Rodríguez Ferri, E.F. 2012. *Haemophilus parasuis* serovar 5 Nagasaki strain adheres and invades PK-15 cells. *Vet. Microbiol.* **154**: 347-352.
- Frandoloso, R.; Pivato, M.; Martínez Martínez, S.; Rodríguez Ferri, E.F.; Gutiérrez Martín, C.B. 2013. Differences in *Haemophilus parasuis* adherence to and invasion of AOC-45 porcine aorta endothelial cells. *BMC Vet. Res.* **9**: 207. doi: 10.1186/1746-6148-9-207.
- Fu, S.; Ou, J.; Zhang, M.; Xu, J.; Liu, H.; Liu, J.; Yuan, F.; Chen, H. & Bei, W. 2013. The live attenuated *Actinobacillus pleuropneumoniae* triple-deletion mutant  $\Delta$ apxIV-ORF1 strain, SLW05, immunizes pigs against lethal challenge with *Haemophilus parasuis*. *Clin. Vaccine Immunol.* **20**: 134-139.
- Fulde, M.; Valentin-Weigand, P. 2013. Epidemiology and pathogenicity of zoonotic streptococci. *Curr. Top. Microbiol. Immunol.* **368**: 49-81.
- Giménez Lirola L.G.; Jiang, Y.H.; Sun, D.; Hoang, H.; Yoon, K.J.; Halbur, P.G. & Opriessnig, T. 2014. Simultaneous detection of antibodies against Apx-toxins I, II, III and IV in pigs with known and unknown *Actinobacillus pleuropneumoniae* exposure using a multiplexing liquid array platform. *Clin. Vaccine Immunol.* **21**: 85-95.

- Gutiérrez Martín, C.B.; Tascón Cabrero, R.I.; Suárez Estrada, J. & Rodríguez Ferri, E.F. 1989. Estudio de la pleuroneumonía porcina en la provincia de León. I. Encuesta serológica en poblaciones con problemas de pleuroneumonía. *Ann. Fac. Vet. León* **35**: 117-126.
- Gutiérrez Martín, C.B.; Tascón Cabrero, R.I.; Vázquez Boland, J.A. & Rodríguez Ferri, E.F. 1989. Estudio de la pleuroneumonía porcina en la provincia de León. II. Comparación de las técnicas de fijación del complemento, ELISA y aglutinación con 2-mercaptoetanol. *Ann. Fac. Vet. León* **35**: 127-136.
- Gutiérrez Martín, C.B. 1990. *Estudio serológico de la infección natural y experimental por Actinobacillus pleuropneumoniae en Castilla y León*. Tesis Doctoral. Universidad de León.
- Gutiérrez Martín, C.B.; Argüello Villares, J.L.; Vázquez Boland, J.A.; Tascón Cabrero, R.I. & Rodríguez Ferri, E.F. 1990. Comparación de dos métodos de hiperinmunización de conejos frente a serotipos de *Actinobacillus pleuropneumoniae*. *Med. Vet.* **7**: 43-49.
- Gutiérrez Martín, C.B.; Martínez Rodríguez, J.M.; Tascón Cabrero, R.I. & Rodríguez Ferri, E.F. 1990. Infección experimental de cerdos miniatura con *Actinobacillus pleuropneumoniae*. Aspectos clínicos, anatomopatológicos y bacteriológicos. *Anaporc* **94**: 13-38.
- Gutiérrez Martín, C.B.; Tascón Cabrero, R.I.; Suárez Estrada, J.; Vázquez Boland, J.A. & Rodríguez Ferri, E.F. 1990. Prevalencia de la infección producida por *Actinobacillus pleuropneumoniae* en poblaciones porcinas de Castilla y León. *Med. Vet.* **7**: 411-426.
- Gutiérrez, C.B.; Tascón, R.I.; Vázquez, J.A. & Rodríguez Ferri, E.F. 1991. Cross-reactivity between *Actinobacillus pleuropneumoniae* serotypes comparing different antigens and serological tests. *Res. Vet. Sci.* **50**: 308-310.
- Gutiérrez, C.B.; Rodríguez Barbosa, J.I.; González, O.R.; Tascón, R.I. & Rodríguez Ferri, E.F. 1992. Viability of *Actinobacillus pleuropneumoniae* in frozen pig lung samples and comparison of different methods of direct diagnosis in fresh samples. *Comp. Immunol. Microbiol. Infect. Dis.* **15**: 89-95.
- Gutiérrez, C.B.; Rodríguez Barbosa, J.I.; Tascón, R.I., Rodríguez Ferri, E.F. & Domínguez Juncal, J. 1992. Quantifying by monoclonal antibodies of specific IgG, IgM and IgA in the serum of minipigs experimentally infected with *Actinobacillus pleuropneumoniae*. *Res. Vet. Sci.* **53**: 254-256.
- Gutiérrez, C.B.; Píriz, S.; Vadillo, S. & Rodríguez Ferri, E.F. 1993. *In-vitro* susceptibility of *Actinobacillus pleuropneumoniae* strains to 42 antimicrobial agents. *Am. J. Vet. Res.* **54**: 546-550.
- Gutiérrez, C.B.; Rodríguez Barbosa, J.I.; Suárez, J.; Tascón, R.I. & Rodríguez Ferri, E.F. 1993. Evaluation of an immunoperoxidase technique using an only biotin-labeled antibody for the demonstration of *Actinobacillus pleuropneumoniae* in tissue sections. *J. Vet. Med. B* **40**: 81-88.
- Gutiérrez, C.B.; Tascón, R.I.; Rodríguez Barbosa, J.I.; González, O.R., Vázquez, J.A. & Rodríguez Ferri, E.F. 1993. Characterization of V factor-dependent organisms of the family *Pasteurellaceae* isolated from porcine pneumonic lungs in Spain. *Comp. Immunol. Microbiol. Infect. Dis.* **16**: 123-130.
- Gutiérrez, C.B.; Rodríguez Barbosa, J.I.; Suárez, J.; González, O.R.; Tascón, R.I. & Rodríguez Ferri, E.F. 1995. Efficacy of a variety of disinfectants against *Actinobacillus pleuropneumoniae* serotype 1. *Am. J. Vet. Res.* **56**: 1025-1029.

- Gutiérrez, C.B.; Rodríguez Barbosa, J.I., Tascón, R.I.; Costa, Ll.; Riera, P. & Rodríguez Ferri, E.F. 1995. Serological characterisation and antimicrobial susceptibility of *Actinobacillus pleuropneumoniae* strains isolated from pigs in Spain. *Vet. Record* **137**: 62-64.
- Gutiérrez Martín, C.B.; García del Blanco, N.; Blanco, N.; Navas, J. & Rodríguez Ferri, E.F. 2006. Changes in antimicrobial susceptibility of *Actinobacillus pleuropneumoniae* isolated from pigs in Spain during the last decade. *Vet. Microbiol.* **115**: 218-222.
- Halbur, P.; Thanawongnuwech, R.; Brown, G.; Kinyon, J.; Roth, J., Thacker, E. Thacker, B. 2000. Efficacy of antimicrobial treatments and vaccination regimens for control of porcine reproductive and respiratory syndrome virus and *Streptococcus suis* coinfection of nursery pigs. *J. Clin. Microbiol.* **38**: 1156-1160.
- Hansen, M.S.; Pors, S.E.; Jensen, H.E.; Bille-Hansen, V.; Bisgaard, M.; Flachs, E.M. & Nielsen, O.L. 2010. An investigation of the pathology and pathogens associated with porcine respiratory disease complex in Denmark. *J. Comp. Path.* **143**: 120-131.
- Horiguchi, Y. 2012. Swine atrophic rhinitis caused by *Pasteurella multocida* toxin and bordetella dermonecrotic toxin. *Curr. Top. Microbiol. Immunol.* **361**: 113-129.
- Hur, J.; Lee, J.H. 2013. Optimization of immune strategy for a construct of *Salmonella*-delivered ApxIA, ApxIIA, ApxIIIA and OmpA antigens of *Actinobacillus pleuropneumoniae* for prevention of porcine pleuropneumonia using a murine model. *Vet. Res. Commun.* Dec. 5 (Epub ahead of print).
- Karwacki, M.T.; Kadouri, D.E.; Bendaoud, M.; Izano, E.A.; Sampathkumar, V.; Inzana, T.J.; Kaplan, J.B. 2013. Antibiofilm activity of *Actinobacillus pleuropneumoniae* serotype 5 capsular polysaccharide. *PLoS One* **14**: e63844.
- Kielstein, P.; Rapp-Gabrielsen, V.J. 1992. Designation of 15 serovars of *Haemophilus parasuis* on the basis of immunodiffusion using heat-stable antigen extracts. *J. Clin. Microbiol.* **30**: 862-865.
- Kielstein, P.; Wuthe, H.; Angen, O.; Mutters, R. & Ahrens, P. 2001. Phenotypic and genetic characterization of NAD-dependent *Pasteurellaceae* from the respiratory tract of pigs and their possible pathogenic importance. *Vet. Microbiol.* **81**: 243-255.
- Kilian, M. 1976. A taxonomic study of the genus *Haemophilus* with the proposal of a new species. *J. Gen. Microbiol.* **93**: 9-62.
- Kilian, M. & Biberstein, E.L. 1984. Genus II. *Haemophilus*. En: *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, vol. 1. Krieg, N.R.; Holt, J.G. ed., Williams & Wilkins, Baltimore: 558-569.
- Koyama, T.; To, H. & Nagai, S. 2007. Isolation of *Actinobacillus pleuropneumoniae* serovar 15-like strain from a field case of porcine pleuropneumonia in Japan. *J. Vet. Med. Sci.* **69**: 961-964.
- Loera-Muro, V.M.; Jacques, M.; Tremblay, Y.D.; Avelar-González, F.J.; Loera Muro, A.; Ramírez-López, E.M.; Medina-Figueroa, A.; González-Reynaga, H.M. & Guerrero-Barrera, A.L. 2013. Detection of *Actinobacillus pleuropneumoniae* in drinking water from pig farms. *Microbiology* **159**: 536-544.
- MacLean, L.L.; Perry, M.B. & Vinogradov, E. 2004. Characterization of the antigenic lipopolysaccharide O chain and the capsular polysaccharide produced by *Actinobacillus pleuropneumoniae* serotype 13. *Infect. Immun.* **72**: 5925-5930.

- Martínez Martínez, S. 2011. *Respuesta de fase aguda y estudio de la inmunidad humoral en cerdos vacunados con diferentes formulaciones frente a Haemophilus parasuis*. Tesis Doctoral, Universidad de León.
- Müller, T.; Hahn, E.C.; Tottewitz, F.; Kramer, M.; Klupp, B.G.; Mettenleiter, T.C.; Freuling, C. 2011. Pseudorabies virus in wild swine: a global perspective. *Arch. Virol.* **156**: 1691-1705.
- Mullins, M.A.; Register, K.B.; Bayles, D.O.; Butler, J.E. 2011. *Haemophilus parasuis* exhibits IgA protease activity but lacks homologs of the IgA protease genes of *Haemophilus parasuis*. *Vet. Microbiol.* **153**: 407-412.
- Nielsen, R. 1982. *Haemophilus pleuropneumoniae in pigs*. Doctoral Thesis, Statens Veterinære Serumlaboratorium, Copenhagen.
- Nodelijk, G.; Nielen, M.; De Jong, M.C.; Verheijden, J.H. 2003. A review of porcine reproductive and respiratory syndrome virus in Dutch breeding herds: population dynamics and clinical relevance. *Prev. Vet. Med.* **60**: 37-52.
- Olander, H.J. 1963. *A septicaemic disease of swine and its causative agent, Haemophilus paraahaemolyticus*. Doctoral Thesis, Davis, California, EE.UU.
- Olsen, C.W. 2002. The emergence of novel swine influenza viruses in North America. *Virus Res.* **85**: 199-210.
- Olvera, A.; Ballester, M.; Nofrarías, M.; Sibila, M.; Aragón, V. 2009. Differences in phagocytosis susceptibility in *Haemophilus parasuis* strains. *Vet. Res.* **40**: 24. doi: 10.1051/vetres/2009007.
- Olvera, A.; Martínez-Moliner, V.; Pina-Pedrero, S.; Pérez-Simó, M.; Galofré-Milà, N.; Costa-Hurtado, M.; Aragón, V.; Bensaïd, A. 2013. Serum cross-reaction among virulence-associated trimeric autotransporters (VtaA) of *Haemophilus parasuis*. *Vet. Microbiol.* **164**: 387-391.
- Oppriessing, T.; Giménez-Lirola, L.G.; Halbur, P.G. 2011. Polymicrobial respiratory disease in pigs. *Anim. Health Res. Rev.* **12**: 133-148.
- Oppriessing, T.; Hemann, M.; Johnson, J.K.; Heinen, S.; Giménez-Lirola, L.G.; O'Neill, K.C.; Hoang, H.; Yoon, K.J.; Gottschalk, M. & Halbur, P.G. 2013. Evaluation of diagnostic assays for the serological detection of *Actinobacillus pleuropneumoniae* on samples of known or unknown exposure. *J. Vet. Diagn. Invest.* **25**: 61-71.
- Pappas, G. 2013. Socio-economic, industrial and cultural parameters of pig-borne infections. *Clin. Microbiol. Infect.* **19**: 605-610.
- Patenge, N.; Fiedler, T.; Kreikemeyer, B. 2013. Common regulators of virulence in streptococci. *Curr. Top. Microbiol. Immunol.* **368**: 111-153.
- Perry, M.B. & MacLean, L.L. 2004. Structural characterization of the antigenic O-polysaccharide in the lipopolysaccharide produced by *Actinobacillus pleuropneumoniae* serotype 14. *Carbohydr. Res.* **17**: 1399-1402.
- Perry, M.B.; MacLean, L.L. & Vinogradov, E. 2005. Structural characterization of the antigenic capsular polysaccharide and lipopolysaccharide O-chain produce by *Actinobacillus pleuropneumoniae* serotype 15. *Biochem. Cell Biol.* **83**: 61-69.

- Perry, M.B.; Angen, Ø.; MacLean, L.L.; Lacouture, S.; Kokotovic, B.; Gottschalk, M. 2012. An atypical biotype I *Actinobacillus pleuropneumoniae* serotype 13 is present in North America. *Vet. Microbiol.* **156**: 403-410.
- Pohl, S.; Bertschinger, H.U.; Frederiksen, W. & Mannheim, W. 1983. Transfer of *Haemophilus pleuropneumoniae* and the *Pasteurella haemolytica*-like organism causing porcine necrotic pleuropneumonia to the genus *Actinobacillus* (*Actinobacillus pleuropneumoniae* comb. nov.) on the basis of phenotypic and deoxyribonucleic acid relatedness. *Int. J. Syst. Bacteriol.* **33**: 510-514.
- Raaschaert, D.; Duarte, M.; Laude, M. 1990. Porcine respiratory coronavirus differs from transmissible gastroenteritis virus by a few genomic deletions. *J. Gen. Virol.* **71**: 2599-2607.
- Reiner, G.; Fresen, C.; Bronnet, S.; Haack, I.; Willems, H. 2010. Prevalence of *Actinobacillus pleuropneumoniae* infection in hunted wild boars (*Sus scrofa*) in Germany. *J. Wildl. Dis.* **46**: 551-555.
- Rodríguez Ferri, E.F.; Gutiérrez Martín, C.B.; Vázquez Boland, J.A.; Suárez Estrada, J.; de la Fuente López, R. & García Peña. 1989. Distribución estacional y geográfica de cepas de *Actinobacillus pleuropneumoniae* aisladas en España. Estudios de sensibilidad antimicrobiana. *Med. Vet.* **6**: 707-712.
- Rodríguez Ferri, E.F. 2013. Una salud. La colaboración es necesaria. *Ann. Real Acad. Doct. España*, **17**: 205-226.
- Rosales Santana, R.S. 2013. *Desarrollo de herramientas de tipificación y diagnóstico aplicadas al estudio de Mycoplasma hyorhinis y evaluación de un modelo experimental de neumonía en lechones*. Tesis Doctoral. Universidad de Las Palmas de Gran Canaria.
- Rossi, C.C.; Pereira, M.F.; Langford, P.R.; Bazzolli, D.M. 2013. A BOX-SCAR fragment for the identification of *Actinobacillus pleuropneumoniae*. *FEMS Microbiol. Lett.* Dec 23. doi: 10.1111/1574-6968.
- Salichs, M.; Sabaté, D.; Homedes, J. 2013. Efficacy of ketoprofen administered in drinking water at a low dose for the treatment of porcine respiratory complex. *J. Anim. Sci.* **91**: 4469-4475.
- Scheiner, J.D.; Yoon, K.J. 2001. Characterization of H3N2 swine influenza viruses in Iowa swine. *Proc. Am. Assoc. Swine Vet.*: 23-25.
- Shin, M.K.; Kang, M.L.; Cha, S.B.; Lee, W.J.; Sung, J.H. & Yoo, H.S. 2011. An immunosorbent assay based on the recombinant ApxIa, ApxIIa, and ApxIIIa toxins of *Actinobacillus pleuropneumoniae* and its application to field sera. *J. Vet. Diagn. Invest.* **23**: 556-559.
- Shin, M.K.; Kang, M.L.; Jung, M.H.; Cha, S.B.; Lee, W.J.; Kim, J.M.; Kim, D.H. & Yoo, H.S. 2013. Induction of protective immune responses against challenge of *Actinobacillus pleuropneumoniae* by oral administration with *Saccharomyces cerevisiae* expressing Apx toxins in pigs. *Vet. Immunol. Immunopathol.* **151**: 132-139.
- Shin, M.K.; Lee, W.J.; Jung, M.H.; Cha, S.B.; Shin, S.W.; Yoo, A.; Kim, D.H. & Yoo, H.S. 2013. Oral immunization of mice with *Saccharomyces cerevisiae* expressing a neutralizing epitope of ApxIIA exotoxin from *Actinobacillus pleuropneumoniae* induces systemic and mucosal immune responses. *Microbiol. Immunol.* **57**: 417-425.
- Shope, R.E. 1964. Porcine contagious pleuropneumonia. I. Experimental transmission, etiology and pathology. *J. Exp. Med.* **119**: 357-368.

- Simionatto, S.; Marchioro, S.B.; Maes, D.; Dellagostin, O.A. 2013. *Mycoplasma hyopneumoniae*: from disease to vaccine development. *Vet. Microbiol.* **165**: 234-242.
- Stevenson, G.W.; Kiupel, M.; Mittal, S.K.; Choi, J.; Latimer, K.S.; Kanitz, C.L. 2001. Tissue distribution and genetic typing of porcine circoviruses in pigs with naturally occurring congenital tremors. *J. Vet. Diag. Invest.* **13**: 57-62.
- Tascón, R.I.; Rodríguez Ferri, E.F.; Gutiérrez Martín, C.B., Rodríguez Barbosa, J.I.; Berche, P. & Vázquez Boland, J.A. 1993. Transposon mutagenesis in *Actinobacillus pleuropneumoniae* with a Tn10 derivative. *J. Bacteriol.* **175**: 5717-5722.
- Tascón, R.I.; Vázquez Boland, J.A.; Gutiérrez Martín, C.B.; Rodríguez Barbosa, J.I. & Rodríguez Ferri, E.F. 1994. The RTX haemolysins ApxI and ApxII are major virulence factors of the swine pathogen *Actinobacillus pleuropneumoniae*: evidence from mutational analysis. *Mol. Microbiol.* **14** (2): 207-216.
- Tascón Cabrero, R.I. 1995. *Estudios de patogenicidad en Actinobacillus pleuropneumoniae*. Tesis Doctoral. Universidad de León.
- Tascón, R.I.; Vázquez Boland, J.A.; Gutiérrez, C.B.; Rodríguez Barbosa, J.I. & Rodríguez Ferri, E.F. 1997. *Actinobacillus pleuropneumoniae* does not require urease activity to produce acute swine pleuropneumonia. *FEMS Microb. Let.* **148**: 53-57.
- Thacker, E.L. 2001. Immunology of the porcine respiratory disease complex. *Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract.* **17**: 551-565.
- Thacker, E.L.; Thacker, B.J.; Kuhn, M.; Hawkins, P.A.; Water, W.R. 2000. Evaluation of local and systemic immune responses induced by intramuscular injection of a *Mycoplasma hyopneumoniae* bacterin to pigs. *Am. J. Vet. Res.* **61**: 1384-1389.
- Tobias, T.J.; Bourna, A.; Klinkenberg, D.; Daemen, A.J.; Stegeman, J.A.; Wagenaar, J.A. & Duim, B. 2012. Detection of *Actinobacillus pleuropneumoniae* in pigs by real-time quantitative PCR for the apxIV gen. *Vet. J.* **193**: 557-560.
- Tremblay, Y.D.; Lévesque, C.; Segers, R.P. & Jacques, M. 2013. Method to grow *Actinobacillus pleuropneumoniae* biofilm on a biotic surface. *BMC Vet. Res.* **20**: 213.
- van Diemen, P.M.; de Jong, M.F.; de Vries Reilingh, G.; van der Hel, P.; Scharama, J.W. 1994. Intranasal administration of *Pasteurella multocida* toxin in a challenge-exposure model used to induce subclinical signs of atrophic rhinitis in pigs. *Am. J. Vet. Res.* **55**: 49-54.
- Vanni, M.; Merenda, M.; Barigazzi, G.; Garbarino, C.; Luppi, A.; Tognetti, R. & Intorre, L. 2012. Antimicrobial resistance of *Actinobacillus pleuropneumoniae* isolated from swine. *Vet. Microbiol.* **156**: 172-177.
- Vincent, A.; Awada, L.; Brown, I.; Chen, H.; Claes, F.; Dauphin, G.; Donis, R.; Culhane, M.; Halmilton, K.; Lewis, N.; Mumford, E.; Nguyen, T.; Parchariyanon, S.; Pasick, J.; Pavade, G.; Pereda, A.; Peiris, M.; Saito, T.; Swenson, S.; Van Reeth, K.; Webby, R.; Wong, F.; Ciacci-Zanella, J. 2014. Review of influenza A virus in swine worldwide: a call for increased surveillance and research. *Zoonoses Pub. Health* **61**: 4-17.
- Wang, Y.C.; Chan, J.P.; Yeh, K.S.; Chang, C.C.; Hsuan, S.L.; Hsieh, Y.M.; Chang, Y.C.; Lai, T.C.; Lin, W.H.; Chen, T.H. 2010. Molecular characterization of enrofloxacin resistant *Actinobacillus pleuropneumoniae* isolates. *Vet. Microbiol.* **19**: 309-312.
- Wilson, B.A.; Ho, M. 2013. *Pasteurella multocida*: from zoonosis to cellular microbiology. *Clin. Microbiol. Rev.* **26**: 631-655.

- Wills, R.W.; Zimmerman, J.J.; Yoon, K.J.; Swenson, S.L.; McGinley, M.J.; Hill, H.T.; Platt, K.B.; Christopher-Hennings, J.; Nelson, E.A. 1997. Porcine reproductive and respiratory syndrome virus: a persistent infection. *Vet. Microbiol.* **55**: 231-240.
- Xie, F.; Lei, L.; Du, C.; Li, S.; Han, W. & Ren, Z. 2010. Genomic differences between *Actinobacillus pleuropneumoniae* serotypes 1 and 3 and the diversity distribution among 15 serotypes. *FEMS Microbiol. Lett.* **303**: 147-155.
- Zhang, B.; Tang, C.; Liao, M.; Yue, H. 2014. Update on the pathogenesis of *Haemophilus parasuis* infection and virulence factors. *Vet. Microbiol.* **168**: 1-7.
- Zhong, Y.; Tan, Y.W.; Liu, D.X. 2012. Recent progress in studies of arterivirus- and coronavirus-host interactions. *Viruses* **4**: 980-1010.



