

Rev Biomed 2000; 11:175-181.

Aislamiento e identificación de Actinobacillus pleuropneumoniae en pulmones de cerdos con pleuroneumonía crónica sacrificados en el rastro municipal de Mérida, Yucatán, México.

Artículo Original

José de Jesús Williams, Marco A. Torres-León, Pilar Echeverría-Coello, Miguel C. Matos-Medina.

José de Jesús Williams, Depto. de Epidemiología, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Autónoma de Yucatán, Mérida, Yucatán, México.

RESUMEN.

Introducción. El objetivo del presente estudio fue estandarizar la técnica de siembra directa e implementar la prueba de aglutinación rápida en placa para el aislamiento e identificación de *Actinobacillus pleuropneumoniae* en pulmones de cerdos con pleuroneumonía crónica provenientes del rastro municipal de Mérida, Yucatán, México.

Materiales y Métodos. De julio de 1996 a febrero de 1997 se tomaron en el rastro municipal de la ciudad de Mérida, 250 muestras de pulmones de cerdos con lesiones de plueroneumonía en los lóbulos caudales. Las muestras se sembraron en agar sangre con cepa nodriza de *Staphylococcus aureus*, posteriormente fueron incubadas a 37°C por 24 horas en aerobiosis. Las colonias que presentaron satelitismo, beta hemólisis y brillantes,

fueron consideradas colonias sospechosas a *A pleuropneumoniae*. Para la confirmación de *A pleuropneumoniae*, se realizaron las pruebas bioquímicas de urea, glucosa, lactosa, manitol, dulcitol, CAMP y NAD por el método de micrométodos. La prueba utilizada para la serotipificación de *A pleuropneumoniae* fue aglutinación rápida en placa.

Resultados. En 129 (51.6%) pulmones se aisló *A pleuropneumoniae*. De las 129 muestras positivas a *A pleuropneumoniae*, en 113 (87.6%) muestras se obtuvo cultivo puro (sin la presencia de otras bacterias) y en 16 (12.4%) muestras *A pleuropneumoniae* estuvo acompañado de otras bacterias (15 con *P multocida* y 1 con *A pyogenes*). Los serotipos identificados de *A pleuropneumoniae* fueron: serotipo 1 en 88 (68.2%) cepas, serotipo 7

Solicitud de sobretiros: M. en C. José de J. Williams, Depto. de Epidemiología, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Autónoma de Yucatán. Apdo. Postal 4-116, Itzimná, Mérida, Yucatán, México. Tel.: (9) 942-3200 Fax : (9) 942-3205 E-mail: jwill@tunku.uady.mx

Recibido el 13/Dic./1999. Aceptado para publicación el 27/Marzo/2000.

Este artículo esta disponible en <http://www.uady.mx/~biomedic/rb001134.pdf>

Vol. 11/No. 3/Julio-Septiembre, 2000

J de J Williams, MA Torres-León, P Echeverria-Coello, MC Matos-Medina.

en 29 (22.5%) cepas, serotipo 5 en una (0.8%) cepa y 11 (8.5%) cepas tuvieron reacción cruzada entre los serotipos 1 y 7.

Discusión. La selección de la muestra es uno de los factores más importantes para lograr el aislamiento de *A pleuropneumoniae* por medio de la técnica de siembra directa. La técnica de siembra directa para el aislamiento de *A pleuropneumoniae* en pulmones con pleuroneumonía crónica en cerdos de rastro puede ser utilizada para el diagnóstico de la enfermedad. (*Rev Biomed 2000; 11:175-181*)

Palabras Clave: *Actinobacillus pleuropneumoniae*, *Staphylococcus aureus* pleuroneumonía, complejo respiratorio del cerdo.

SUMMARY.

Isolation and identification of *Actinobacillus pleuropneumoniae* in pigs lungs with chronic pleuropneumonia at the slaughterhouse of Merida, Yucatan, Mexico.

Introduction. The objective of this study was to standardize the direct isolation test technique and to develop the quick agglutination test for the isolation and identification of *Actinobacillus pleuropneumoniae* in lungs from pigs with chronic pleuropneumonia. The present study was carried out at the slaughterhouse of Merida, Yucatan, Mexico.

Materials and Methods. From July 1996 to February 1997, two hundred and fifty pig lungs with pleuropneumonia lesions in the caudal lobes were collected from the slaughterhouse of Merida, Yucatan, Mexico. Samples were cultured in blood agar with a nurse strain of *Staphylococcus aureus*, they were incubated at 37°C for 24 hr. in aerobic conditions. The colonies that showed satellitism beta haemolysis and brightness were considered for further analysis. For the *A pleuropneumoniae* identification the biochemical test of urea, glucose, lactose, mannitol, dulcitol, CAMP y NAD (micromethods) were used. The slide agglutination test was used for serotyping of *A pleuropneumoniae*.

Revista Biomédica

Results. In 129 (51.6%) lungs *A pleuropneumoniae* was isolated. In 113 (87.6%) samples *A pleuropneumoniae* was isolated in pure culture, in 16 (12.4%) other bacteria were present (15 samples with *P multocidae* and 1 with *A pyogenes*). The *A pleuropneumoniae* identified serotypes were: serotype 1 in 88 (68.2%) strains, serotype 7 in 29 (22.5%), serotypes 5 in 1 (0.8%) strain and cross-reaction between 1 and 7 serotypes was observed in 11 (8.5%) strains.

Discussion. The direct isolation technique for the culture of *A pleuropneumoniae* in pig lungs with chronic pleuropneumonia can be used for the diagnosis of this disease. Sample selection is one of the most important factors in order to isolate *A pleuropneumoniae* by the direct isolation technique. (*Rev Biomed 2000; 11:175-181*)

Key words: *Actinobacillus pleuropneumoniae*, *Staphylococcus aureus* pleuropneumonia, respiratory complex in pigs.

INTRODUCCIÓN.

El complejo respiratorio ha sido identificado como el principal síndrome que afecta al ganado porcino en explotaciones comerciales, y se encuentra asociado con varios agentes etiológicos como *Actinobacillus pleuropneumoniae*, *Mycoplasma hyopneumoniae*, *Haemophilus parasuis*, *Bordetella bronchiseptica*, los virus de influenza porcina, fiebre porcina clásica entre otros (1,2). *Actinobacillus pleuropneumoniae* es el agente causal de la pleuroneumonía contagiosa porcina. Esta enfermedad se encuentra ampliamente distribuida en muchos países y causa pérdidas en la ganancia de peso, conversión alimenticia (3-5), incremento en el número de días que se requieren para que los cerdos alcancen el peso de mercado (3,6), aumento en la prevalencia de lesiones pulmonares (7-9), incremento en la mortalidad (3) y pérdidas económicas (10).

En México entre el 30 y 60% de los cerdos que llegan a los rastros, presentan lesiones

Actinobacillus pleuropneumoniae en cerdos con pleuroneumonía crónica.

neumónicas (11).

El aislamiento de *A pleuropneumoniae* a partir de muestras de pulmones de rastro es difícil, en comparación con aislamientos obtenidos de lesiones hiperagudas y agudas, y a que el crecimiento de la bacteria en lesiones crónicas es irregular, aún cuando se le proporcionen las condiciones necesarias para su crecimiento (12,13). La dificultad de aislar *A pleuropneumoniae* de lesiones crónicas, se relaciona con la presencia de otras bacterias en pulmones, las cuales pueden inhibir el crecimiento del *A pleuropneumoniae* (13-16).

En el estado de Yucatán, se ha identificado que uno de los principales problemas que afecta a la industria porcina es el complejo respiratorio (17). Torres y Ramírez (18), reportaron que entre 1990 y 1994, el 54% de los cerdos que murieron fueron debidas a lesiones neumónicas. La porcicultura es una actividad importante, principalmente en términos de su valor económico, volumen de producción, su alta demanda por parte de la población y su capacidad generadora de empleos (19). Los productores del estado de Yucatán, tuvieron una producción de 1 000 000 de cerdos de engorda finalizados durante 1998.

En Yucatán, no se cuenta con las técnicas para el aislamiento e identificación de *A pleuropneumoniae*, por lo que el objetivo del presente trabajo es estandarizar la técnica de siembra directa e implementar la prueba de aglutinación rápida en placa para el aislamiento e identificación de *Actinobacillus pleuropneumoniae* en pulmones de cerdos con pleuroneumonía crónica provenientes del rastro municipal de Mérida, Yucatán, México.

MATERIALES Y MÉTODOS.

Lugar de estudio.

Se realizaron dos visitas por semana al rastro municipal de la ciudad de Mérida, Yucatán, México, de julio de 1996 a febrero de 1997.

Características de la muestra.

Se tomaron 250 muestras de pulmones de

cerdos con lesiones de pleuroneumonía en los lóbulos caudales, con evidencia de reparación (inflamación crónica) (20). Las lesiones pulmonares presentaron las siguientes características: región focal congestionada de color rojo oscuro y adherencias entre pleura parietal y visceral y entre lóbulos.

Toma y conservación de las muestras.

Las muestras se tomaron con la mayor asepsia con un tamaño de aproximadamente 10 x 10 x 10 cm aproximadamente y se depositaron en bolsas de plástico nuevas, las cuales fueron identificadas y conservadas en refrigeración a 4°C por 12 horas. Las muestras se trabajaron en el Laboratorio de Bacteriología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Autónoma de Yucatán, México.

Bacteriología.

Las muestras se sembraron en agar sangre con cepa nodriza de *Staphylococcus aureus*, posteriormente fueron incubadas a 37°C por 24 horas en aerobiosis. Las colonias que presentaron satelitismo, beta hemólisis y brillantes, fueron consideradas colonias sospechosas a *A pleuropneumoniae*. Posteriormente fueron resembraron en agar chocolate y se incubaron a 37°C por 24 horas en aerobiosis. Para la confirmación de *A pleuropneumoniae*, se realizaron las pruebas bioquímicas de urea, glucosa, lactosa, manitol, dulcitol, CAMP (Christie, Atrino y Munch-Petersen) y NAD (Nicotinamida Adenina Dinucleótido) por el método de micrométodos (21,22). Las colonias de *A pleuropneumoniae* se recolectaron en viales estériles conteniendo leche descremada y se almacenaron a -20°C para su posterior tipificación. La prueba utilizada para la serotipificación fue aglutinación rápida en placa (23).

RESULTADOS.

De las 250 muestras de pulmón en 129 (51.6%) se aisló *A pleuropneumoniae*. De las 129 muestras positivas a *A pleuropneumoniae*, en 113 (87.6%) muestras se obtuvo cultivo puro (sin la presencia de otras bacterias) y en 16 (12.4%) muestras *A pleuropneumoniae* estuvo acompañado de

J de J Williams, MA Torres-León, P Echeverria-Coello, MC Matos-Medina.

otras bacterias (15 con *P multocida* y 1 con *A pyogenes*).

Los serotipos identificados de *A pleuropneumoniae* fueron: serotipo 1 en 88 (68.2%) cepas, serotipo 7 en 29 (22.5%) cepas serotipo 5 en una (0.8%) cepa y en 11 (8.5%) cepas se observó reacción cruzada entre los serotipos 1 y 7.

DISCUSIÓN.

Durante la utilización del método de siembra directa, frecuentemente *A pleuropneumoniae* se encuentran asociado con *P multocida*, *H parasuis* e incluso *M hyopneumoniae* (13,14). En este estudio *P multocida* y *A pyogenes* u otras bacterias probablemente se encontraban en bajas cantidades, lo cual pudo permitir que las cepas de *A pleuropneumoniae* pudieran crecer.

Todas las muestras de los pulmones fueron tomadas de los lóbulos caudales con pleuroneumonía. Freese (24) y Torres (25) mencionan que este tipo de lesión es característica de *A pleuropneumoniae*, lo cual permite tener una mayor probabilidad de lograr el aislamiento de *A pleuropneumoniae*. Sin embargo, Lugo y col. (26) y Torres y col. (27) en estudios realizados en México, han logrado aislamientos de *A pleuropneumoniae* a partir de varios tipos de lesiones en pulmones de cerdos sacrificados en rastro. En Estados Unidos de Norteamérica, se reporta que utilizando la técnica de siembra directa en 123 muestras de pulmones de cerdos con lesiones neumónicas (sin importar el lóbulo muestreado), se obtuvo 45 (36.6%) aislamientos de *A pleuropneumoniae* (28). Existen distintos tipos de lesiones neumónicas que pueden ser causadas por diversos agentes patógenos y estas lesiones se pueden complicar al existir más de un agente patógeno (29,30). Ontiveros y col. (15) utilizando la técnica de siembra directa en 145 pulmones con diferente tipo de lesión, aisló 25 (17.2%) cepas de *A pleuropneumoniae*. Rosado y col. (31) de un total de 134 muestras de pulmones neumónicos de cerdos sacrifica-

dos en rastro, aislaron por medio de la técnica de siembra directa 3 (2.2%) cepas de *A pleuropneumoniae*.

Todos los trabajos mencionados, obtuvieron un porcentaje de aislamiento menor al encontrado en este trabajo. Lo anterior se pudo deber al tipo de muestra utilizada, la cual no fueron en todos los casos lesiones característica de *A pleuropneumoniae*, presencia de otras bacterias, poca asepsia en la toma de la muestra, conservación de las muestras, antibióticos administrados a los cerdos durante la etapa de crecimiento y engorda y la calidad de los medios de cultivo para el aislamiento (14,32,33).

Actinobacillus pleuropneumoniae produce tres diferentes exotoxinas conocidas como Apx I, Apx II y Apx III. Los serotipos identificados en este estudio 1, 5 y 11 producen las toxinas Apx I y Apx II y el serotipo 7 la toxina Apx II (34). Las toxinas Apx I es hemolítica y cototóxica para las células del cerdo, la Apx II es débilmente hemolítica y ligeramente citotóxico y la Apx III posee actividad citotóxicas pero no hemolítica para los macrófagos y neutrófilos (35-37). Stockhofe-Zurwieden y col. (34), demostraron que cuando el serotipo 1 contaba con las toxinas Apx I y II, produjo lesiones severas en los pulmones y que la patogenicidad de *Actinobacillus pleuropneumoniae* está determinada por la presencia de al menos una de las toxinas de Apx.

Díaz y col. (38) en México utilizando la técnica de siembra directa en 76 pulmones de cerdos con pleuroneumonía aguda, lograron aislar 67 (88.2%) cepas de *A pleuropneumoniae*. Garabay y col. (39) lograron aislar en México, de 23 pulmones muestreados con pleuroneumonía aguda por medio de la técnica de siembra directa, 23 (100%) cepas de *A pleuropneumoniae*. Estos autores, le tomaron para lograr una mayor probabilidad de aislamiento, a cada pulmón lesionado 4 muestras de la misma lesión, teniendo un total de 92 muestras. En cada pulmón se logro aislar *A pleuropneumoniae* por lo menos en una de las cuatro muestras. Asimismo, lograron un

Actinobacillus pleuropneumoniae en cerdos con pleuroneumonía crónica.

mayor porcentaje de aislamientos al encontrado en este trabajo, probablemente debido a que las lesiones pleuroneumónicas de tipo agudo son características de *A pleuroneumoniae* y existe mayor probabilidad de aislamiento debido a la presencia de un mayor número de bacterias (40,41).

En la prueba de aglutinación rápida en placa, se observó reacción cruzada entre los serotipos 1 y 7, los cuales reaccionaron (ambos) con los antisueros 1 y 7. La aglutinabilidad de la superficie de las células completas varía de cepa a cepa. Algunas cepas tienen sus aglutinógenos serotipo específico completamente expuestos en la capa superficial, mientras que otras, los antígenos pueden estar parcial o completamente cubiertas por ciertas superficies de membranas que no permiten ocurrencia de la aglutinación. El calentamiento de las células completas permite remover la capa superficial y que se exponga más aglutinógenos o antígenos. Los antígenos de la superficie y los que se encuentran debajo de ella pueden ser parte de los antígenos capsulares (42).

En conclusión, la técnica de siembra directa para el aislamiento de *A pleuropneumoniae* en pulmones con pleuroneumonía crónica en cerdos de rastro, puede ser utilizada para el diagnóstico de la enfermedad. La selección de la muestra es uno de los factores más importantes para lograr el aislamiento de *A pleuropneumoniae* por medio de la técnica de siembra directa.

REFERENCIAS.

- 1.- Estrada RR. Causas de enfermedades respiratorias. *Cerdos* 1997; (8): 20-2.
- 2.- Ramírez NR. Las interacciones microbianas y el ambiente. *Cerdos* 1998; (10): 3-4.
- 3.- Guerrero RJ, Miyat JA, Gorham PL, Watkins LE, Brown H, Ose E, *et al.* Incidence and economic implications of pneumonia and atrophic rhinitis in pigs in the USA and Canada. Proc. 10th Inter Cong Pig Vet Soc, Rio de Janeiro; 1988. p. 421.
- 4.- Hill MA, Scheidt AB, Teclaw RF, Clark LK, Knox KE, Jordan M.. Association between growth indicators and volume of lesions in lungs from pigs at slaughter. *Am J Vet Res* 1992; 53: 2221-3.
- 5.- Hill MA, Scheidt AB, Teclaw RF, Clark LK, Knox KE, Jordan M. Relationship between the indicators of performance and the weight of pneumonic lesions from pigs at slaughter. *Res Vet Sci* 1994; 56: 240-4.
- 6.- Rohrbach BW, Hall RF, Hitchcock JP. Effect of subclinical infection with *Actinobacillus pleuropneumoniae* in commingled feeder swine. *J Am Vet Med* 1993; 202: 1095-8.
- 7.- Pointon AM, Byrt D, Heap P. Effect of enzootic pneumonia of pigs on growth performance. *Aust Vet J* 1985; 62: 13-18.
- 8.- Torres M. Prevalencia de lesiones en pulmones y evaluación de una prueba de aglutinación en placa (pleurotest) para la detección de anticuerpos contra *Actinobacillus pleuropneumoniae* en cerdos sacrificados en el rastro municipal de Mérida, Yucatán, México. Tesis de Maestría, Universidad Autónoma de Yucatán; Yucatán, México; 1995.
- 9.- Williams J. Lesiones histológicas en pulmones de cerdos con aislamiento de *Mycoplasma hyopneumoniae*. Memorias del VII Congreso de la Sociedad Mexicana de Patólogos Veterinarios, A.C., Manzanillo, México; 1998. p. 23.
- 10.- Monroy M, Doperto M, Zuniga J, Trujillo M.. Evaluacion en rastro: herramienta util para controlar enfermedades (primera parte). *Tec Avipec* 1994; 7: 11-17.
- 11.- Pijoan C. Serology and immunology of *Haemophilus pleuropneumoniae*. *Haemophilus pleuropneumoniae* compendium. Iowa State, USA: Singler Printing 1985; p. 23-7.
- 12.- Nielsen, R. *Haemophilus pleuropneumoniae*. Diagnosis, immunity and control. Compendium Annual Meeting of the Am Assoc of Swine Prac Iowa, USA 1985. p. 18-22.
- 13.- Willson PJ, Schipper C, Morgan D. The use of an enzymelinked immunosorbent assay for diagnosis of *Actinobacillus pleuropneumoniae* infection in pigs. *Can Vet J* 1988; 29: 583-4.
- 14.- Pijoan C, Morrison RB, Hilley D. Dilution technique for isolation of *Haemophilus* from swine lungs collected at slaughter. *J Clin Microbiol* 1983; 18: 143-5.
- 15.- Ontiveros C, Camacho M, Alvarez De la C. Correla-

J de J Williams, MA Torres-León, P Echeverria-Coello, MC Matos-Medina.

- ción entre la serotipificación de *Actinobacillus pleuropneumoniae* y su aislamiento de cerdos de rastro y de cerdos de granjas con problemas neumónicos. XXVII Congreso Nacional de la Asociación Mexicana de Especialistas en Cerdos. Acapulco; 1992. p. 66-69.
- 16.- Gutiérrez CB, Píriz S, Vadillo S, Rodríguez E. In vitro susceptibility of *Actinobacillus pleuropneumoniae* strains to 42 antimicrobial agents. Am J Vet Res 1993; 42; 546-50.
- 17.- Williams J. Los signos que sugieren la presencia de enfermedad y la eficiencia en la conversión alimenticia en cerdos para abasto desde el destete hasta su venta en granjas de ciclo completo en el estado de Yucatán. Tesis de Maestría, Universidad Autónoma de Yucatán, Yucatán, México; 1994.
- 18.- Torres M, Ramírez R. Frecuencia de lesiones pulmonares, hepáticas y gástricas en porcinos sacrificados en el rastro de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Autónoma de Yucatán. Memorias del IV Congreso de la Sociedad Mexicana de Patólogos Veterinarios. Toluca, México; 1995. p. 92.
- 19.- Leyva MC, Rejon AM, Pech MV, Gomez MM. Diagnóstico de la productividad de la porcicultura comercial en Yucatan. Revista de la Universidad Autónoma de Yucatán 1992; 182: 50-9.
- 20.- Majno G, Joris I. Cell, tissues and disease: principles of general pathology. Cambridge: Blackwell Science; 1996. p. 429-63.
- 21.- Biberstein EL, Gunnarson A, Hurvell B. Cultural and biochemical criteria for identification of *Haemophilus spp.* from swine. Am J Vet Res 1977; 38: 7-11.
- 22.- Garcilazo OJ. Aislamiento de *Actinobacillus pleuropneumoniae* y *Haemophilus spp.* en pulmones neumónicos de cerdos del rastro de Mérida. Tesis de Licenciatura. Universidad Autónoma de Yucatán, Yucatán, México: 1990.
- 23.- Mittal KR, Higgins R, Lariviere S. Evaluation of slide agglutination and ring precipitation test of capsular serotyping of *Haemophilus pleuropneumoniae*. J Clin Microbiol 1982; 15:1019-23.
- 24.- Freese W. Síndrome clínico y procedimientos de tratamiento para *Actinobacillus (Haemophilus) pleuropneumoniae* En: Morilla A, editor. Avances en producción porcina. Asociación Mexicana de Especialistas en Cerdos, México, D.F; 1992. p. 108-16.
- 25.- Torres M. Patología del aparato respiratorio de los porcinos. Momeroias del curso sobre Grupo HAP: *Haemophilus-Actinobacillus-Pasteurella* en cerdos. Comité Estatal para el Fomento y Protección Pecuaria del Estado de Yucatán. Mérida, Yucatán. México; 1997. p. 73-80.
- 26.- Lugo R, Torres A, Márquez L, Mendoza S, Lara S, Ciprian A. Estudio patológico y bacteriológico comparado con el diagnóstico serológico "pleurotest" en pulmones y sueros colectados en rastro. XXV Congreso Nacional de la Asociación Mexicana de Especialistas en Cerdos, Jalisco, México; 1990. p. 204-6.
- 27.- Torres OA, Carrión GM, Mendoza ES, Ciprian CA. Estudio serológico con "pleurotest" empleando los serotipos 1,2,3,5,7 y 9 de *Actinobacillus pleuropneumoniae* relacionado con la patología y bacteriología de pulmones colectados en rastro. XXVI Congreso Nacional de la Asociación Mexicana de Especialistas en cerdos, Mérida, Yucatán, México; 1991. p. 157-9.
- 28.- Hunter D, Livingstone J. Detection of *Haemophilus pleuropneumoniae* antigens using the coagglutination test. Vet Rec 1986; 118:129.
- 29.- Jericho K. Pathogenesis of pneumonia in pigs. Vet Rec 1986; 82: 507-20.
- 30.- Ross R. Mycoplasma diseases. En: Leman AD, Straw BE, Mengeling WL, D'Allaire S, Taylor DJ, editores. Diseases of swine 7^a ed. Iowa: Wolfe; 1992. p. 537-43.
- 31.- Rosado M, Quintero M, Garcilazo JA. Evaluación de un medio selectivo con diluciones para el aislamiento de *Actinobacillus pleuropneumoniae* y *Haemophilus spp.* en cerdos. Rev Lat Micro 1993; 35: 277-300.
- 32.- Brandreth S, Smith I. Prevalence of pig herds affected by pleuropneumonia associated with *Haemophilus pleuropneumoniae* in eastern England. Vet Rec 1985; 117:143-7.
- 33.- Mittal KR, Higgins R, Lariviere S, Martineau GP. Use of Co-agglutination test for direct detection and serotyping of *Haemophilus pleuropneumoniae*. *Haemophilus pleuropneumoniae* Compendium, Iowa, USA: Singler Printing 1985. p. 28-33.
- 34.- Stockofe-Zurwieden N, Kampi E, van Leengoed, Smits L. Pathogenicity of RTX toxin mutants of *Actinobacillus pleuropneumoniae*: results of in vivo studies. Proc 14th Int

Actinobacillus pleuropneumoniae en cerdos con pleuroneumonía crónica.

Pig Vet Soc Cong. Bologna, Italy; 1996. p. 189.

35.- Kamp EM, Popma JK, Anakotta J, Smits MA. Identification of a hemolytic and cytotoxic proteins of *Actinobacillus pleuropneumoniae* by use of monoclonal antibodies. *Infect Immunol* 1991; 59:3079-85.

36.- Frey J, Beck M, Stucki V, Nicolet J. Analysis of hemolysins operons in *Actinobacillus pleuropneumoniae*. *Gen* 1993; 123:51-8.

37.- Rycroft A. Mimicking immunity to prevent pleuropneumonia. *Respiratory Diseases Pig Progress*; june 1999. p. 16-18.

38.- Díaz C, González M, Jiménez E, Stephano A. Identificación de diferentes serotipos de *Actinobacillus pleuropneumoniae* aislados en México de cerdos con pleuroneumonía de 1985 a 1988. *Vet Mex* 1989; 20:157-9.

39.- Garabay EJ, Ciprian CA, Mendoza ES, González GS, Hernández E. Apéndices extracelulares en *Actinobacillus pleuropneumoniae* aislados de casos agudos de pleuroneumonía contagiosa porcina. XXVIII Congreso Nacional de la Asociación Mexicana de Especialistas en Cerdos, Cancun, México; 1993. p. 283-5.

40.- Bertram T. Pathobiology of acute pulmonary lesions in swine infected with *Haemophilus (Actinobacillus) pleuropneumoniae*. *Can Vet J* 1988; 29: 574-7.

41.- Nicolet J. *Actinobacillus pleuropneumoniae*. En: Leman AD, Straw BE, Mengeling WL, D'Allaire S, Taylor DJ, editores. *Diseases of swine* 7ª ed. Iowa: Wolfe; 1992. p.401-8.

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