

SIGNOS CLINICOS Y LESIONES EN CERDOS INOCULADOS  
EXPERIMENTALMENTE CON Haemophilus pleuropneumoniae  
Y TRATADOS CON ENROFLOXACINA.

Stephano HA\*, Diaz RC, Vazquez-Rojas F,  
Navarro-Fierro R y Pérez PF.

Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, U.N.A.M. México, D.F. 04510.

**INTRODUCCION.** La pleuroneumonía porcina causada por Haemophilus pleuropneumoniae (Hpp) se caracteriza por ocasionar signos respiratorios severos asociados a pleuroneumonía hemorrágica necrotizante y alta mortalidad. El H. pleuropneumoniae puede causar diferentes cuadros clínico-patológicos: sobreagudos, agudos, crónicos o subclínicos, dependiendo del serotipo involucrado (1), del grado de resistencia del animal, o de las condiciones medio ambientales y de manejo (2).

La vacunación y la medicación modifican el cuadro clínico, sin embargo no eliminan al agente ni evitan el desarrollo de casos crónicos o subclínicos de la infección (3). El objeto del presente trabajo es describir los signos clínicos y lesiones en cerdos inoculados experimentalmente y tratados o no con enrofloxacina.

**MATERIAL Y METODOS.** Se utilizaron 29 cerdos de 25 a 30 kg de peso corporal, procedentes de una granja sin antecedentes de infección por H. pleuropneumoniae. A 26 animales se les inocularon por aerosol 2 ml de una solución que contenía  $2 \times 10^7$  H. pleuropneumoniae serotipo 1. Entre las 8 y 12 hs postinoculación (PI) a 20 animales (Grupo A) se les administro enrofloxacina intramuscular por 3 días a razón de 2.5 a 10 mg/kg de peso corporal, los 6 animales restantes (Grupo B) permanecieron como testigos positivos inoculados. Los 3 animales sin inoculación (Grupo C) permanecieron como testigos negativos sin tratamiento.

Se registró la temperatura corporal y los signos clínicos cada 2 hs durante las primeras 48 hs y el peso corporal cada 7 días. A los 9 días PI se sacrificaron 5 animales del grupo A. A los 14 días PI se sacrificaron 6 animales del grupo A y uno del grupo B. A los 103 días PI se sacrificaron los animales restantes 9 del Grupo A, uno del Grupo B y 3 del Grupo C. Cuatro animales del Grupo B que murieron después de la inoculación y a todos los animales sacrificados se les realizó la necropsia, se identificaron las lesiones y se realizó estudio histopatológico de pulmón.

**RESULTADOS Y DISCUSION.** Entre las 2 y 4 hs PI se observaron los primeros signos de la infección. A las 4 hs los animales tenían fiebre, depresión, anorexia y disnea. Los signos respiratorios fueron progresivos hasta observarse la muerte de

cuatro testigos no tratados (67% de mortalidad). Los animales tratados se recuperaron 12 hs después de la aplicación de la enrofloxacin. Los testigos negativos permanecieron asintomáticos (ver Cuadro 1).

**CUADRO 1. SIGNOS CLINICOS. (Hora de inicio y terminación).**

GRUPO	A		B		C	
No de ANIMALES	20		6		3	
SIGNO.	Ini	Ter	Ini	Ter	Ini	Ter
Fiebre	3	18	3	66*	-	-
Depresión	4	18	4	44‡	-	-
Anorexia	4	20	4	72+	-	-
Disnea	4	23	4	194	-	-
Apiñados	9	12	6	9	-	-
Vomito	8	12	9	52	-	-
Secreción nasal	10	19	9	79	-	-
Posición perro sentado	10	12	10	14	-	-
Postración	10	15	19	194	-	-
Respiración por boca	10	14	12	17	-	-
Estiran cuello	13	16	15	18	-	-
Eritema cutáneo	10	16	20	59	-	-
Conjuntivitis	12	20	12	288	-	-
Diarrea	12	18	11	174	-	-
Estornudo	16	21	16	34	-	-
Tos	16	21	60	123	-	-
Sangre por nariz y boca	-	-	18	22	-	-
Muerte	-	-	18	63	-	-
Cianosis	-	-	21	28	-	-
Pérdida de peso (kg prom./Núm. animales)	0	48	0	192	-	-
	0.3/1		1.3/5		-	/-

Ini = Hora promedio de inicio del signo. Ter = Terminación

\* Un sobreviviente tuvo fiebre por 21 días.

‡ La depresión fue variable durante 15 días.

+ Durante 10 días el consumo de alimento fue reducido, además consumieron menos alimento que los otros durante todo el experimento por lo que tuvieron retraso en el crecimiento.

Cuatro animales del Grupo B murieron entre 18 y 63 hs PI y tenían abundante exudado serosanguinolento en EL tórax y EL pericardio. Los que murieron antes de las 36 hs PI presentaron neumonía fibrinohemorrágica, los que murieron posteriormente tuvieron neumonía fibrinonecrótica de extensión variable, que afectó del 25 al 80%. El cerdo que se sacrificó a los 14 días PI tenía nódulos necróticos con exudado caseoso de color amarillento y rodeados por tejido conjuntivo, en los lóbulos diafragmáticos (30% del pulmón). El cerdo sacrificado a los 103 días PI tenía adherencias y fibrosis pulmonar con formación de cavernas afectando el lóbulo diafragmático (15% del pulmón).

En los animales del Grupo A, tratados con enrofloxacin, se observaron lesiones de neumonía enzootica asociada a Pasteurella multocida en 6 cerdos, en los que afectó del 1 al 5% del pulmón (15% en uno). En uno se encontraron abscesos piógenos y en dos más hubo pleuritis fibrosa (uno con pericarditis fibrosa).

Entre los animales del Grupo C, sólo uno mostró lesiones de neumonía enzootica, que afectó el 1% del pulmón (ver Cuadro 2).

Los signos siguieron una curso normal, con casos sobreagudos, agudos y crónicos, como se describe en la literatura (2). En todos los cerdos tratados los signos y las lesiones desaparecieron.

CUADRO 2. LESIONES MACROSCOPICAS (No. de animales afectados)

LESION	GRUPO:	A	B	C
Pleuritis fibrinosa		-	4	-
Exudado serosanguinolento		-	4	-
Neumonía fibrinohemorrágica		-	2	-
Neumonía fibrinonecrótica		-	2	-
Adherencias fibrosas pleurales		2	2	-
Adherencias pericardicas		1	-	-
Nódulos necróticos ("Abscesos")		-	1	-
Abscesos piógenos		1*	-	-
Fibrosis pulmonar ("Cavernas")		-	1+	-
Bronconeumonía		6	-	1
Gastritis catarral		-	3	-
Cianosis		-	2	-
Rinitis atrófica		5	1	-

\* Este animal tenia abscesos piógenos en pulmón, ganglios submaxilares, cervicales y músculos.

+ Este animal tenia bronquios cavernosos (Bronquiectasia) con escaso exudado purulento y rodeados de abundante tejido fibroso.

## REFERENCIAS

1. Desrosiers R, Caron EW, and Cie Ltee: Control of porcine pleuropneumonia in finishing units. Proceedings 9th International Pig Veterinary Society Congress. 272 (1986).
2. Nicolet J: Haemophilus pleuropneumoniae in Disease of Swine. 6th ed. Edited by Leman A, Straw B, Glock R, Mengueling W, Penny R and Scholl E. 426-436. 1986.
3. Nielsen R: Haemophilus pleuropneumoniae diagnosis, immunity and control. Annual Meeting American Association Swine Practitioners. Des moins Iowa. 18-22 (1985).



TITULO: PRODUCCION DE UN NUEVO MEDIO DE CULTIVO PARA EL Haemophilus pleuropneumoniae.

AUTORES: Romero R.A., Santoyo A., Rodriguez C., Bárcenas G., Miranda P. Alvarez de la C.J., Camacho J.

INSTITUCION: Coordinación General de Estudios de Posgrado, FES-Cuautitlán, U.N.A.M.

INTRODUCCION.

El Haemophilus pleuropneumoniae es una bacteria que causa una neumonia en cerdos, causante de grandes pérdidas económicas en la industria de la porcicultura (Baxter, 1979)

Una característica importante de este microorganismo es la de depender del factor de crecimiento V conocido con el nombre de NAD (nicotinamin adenin dinucleótido), el cual tiene la siguiente fórmula: C H N O P .

Esta sustancia se obtiene actualmente como:

1.-NAD purificado de diferentes fuentes (Ohlmeyer, 1938; Ochoa, 1937; Warburg, 1936) el cual resulta muy costoso.

2.-NAD presente en extracto de levadura fresco que se añade en medios de cultivo, su empleo resulta poco práctico debido al tiempo que requiere su preparación, sin embargo resulta mucho menos costoso que el purificado.

3.-NAD excretado por S. aureus, el cual es usado principalmente en la prueba de satelitismo utilizada para identificar al Haemophilus pleuropneumoniae.

La producción industrial del NAD se realiza a partir del cultivo de Brevibacterium ammoniagenes, con el cual la compañía KYOWA obtiene rendimientos de 1.9 g de NAD/l (Nakayama, 1968).

OBJETIVOS

Evaluar una cepa productora de NAD determinando sus características de crecimiento y establecer si el sobrenadante del cultivo de esta bacteria se puede utilizar para el crecimiento de Haemophilus pleuropneumoniae.

MATERIAL Y METODOS.

Se determinó la curva de crecimiento de la cepa bacteriana de prueba (CBP) inoculando 2 matraces Erlenmeyer que contenían medio Robinson-dextrosa con 1 ml de cultivo de 18 horas, se incubaron a 37 C y se tomaron muestras de 1 ml cada hora hasta las 20 hrs posteriores. Se midió la absorbancia a 590 nm. Se obtuvo la concentración de NAD en el cultivo agregando bisulfito de sodio 10 mM y midiendo la absorbancia a 340 nm . La CBP se cultivó en los siguientes medios BHI, Luria, Casman , Agar Sangre , Peptona y Robinson dextrosa. Se realizaron pruebas de satelitismo en cada uno de los medios descritos comparando la CBP como cepa nodriza con una cepa de S. aureus, para esta prueba se utilizó una cepa de H. pleuropneumoniae serotipo 1 , previamente cultivado en caldo

BHI complementado con 10 % de extracto de levadura , 5% de suero de caballo y 0.0025% de NAD (Sigma). El efecto del sobrenadante del cultivo de la CBP sobre el crecimiento de H. pleuroneumoniae se probó agregando a cada uno de los medios, Luria, Peptona, Casman y BHI, 10 % de sobrenadante de un cultivo realizado 24 horas antes inoculando la CBP en un matraz Erlenmeyer con medio Robinson-Glucosa.

#### RESULTADOS

El microorganismo creció en todos los medios de cultivo estudiados y produjo un efecto de satelitismo semejante al obtenido con S. aureus . La curva de crecimiento comparada con la cinética de producción de NAD mostró que este compuesto es un metabolito primario. H. pleuroneumoniae se desarrolló normalmente en todos los medios complementados con el sobrenadante de cultivo de la CBP.

#### DISCUSION

El sobrenadante de cultivo de la CBP cubre los requerimientos de NAD para el cultivo de H. pleuropneumoniae , además de proporcionar otros nutrientes que hacen mas sencillo el medio de cultivo necesario para el H. pleuropneumoniae. El sobrenadante de cultivo de la CBP permite la reducción de costos al sustituir al NAD purificado. Este sobrenadante es ofrecido comercialmente como FESUNAD-1 (marca y patente registro en trámite) . Actualmente se esta diseñando un medio de cultivo específico para H. pleuropneumoniae el cual será economico y se empezará ofrecer con el nombre de FESUNAD-2 ( Marca y patente en trámite).

#### BIBLIOGRAFIA

- Blaxter K. (1979). Vet. Rec. 105.  
Olmeyer, A. (1938). Biochem Z. 297.  
Ochoa, S. (1937). Biochem Z. 292.  
Warburg , Ch. (1936). Biochem. Z. 291.  
Nakayama K., Sato, Z., Tanaka H., Kinoshita, S. (1968) Agr. Biol. Chem. 32(11).

**AISLAMIENTO Y SEROTIPIFICACION DE Haemophilus pleuropneumoniae RECUPERADOS DE PULMONES DE CERDOS CON PLEURONEUMONIA EN MEXICO.**

C. Diaz\*, M. Gonzalez, E. Jimenez. y Stephano A.

Departamento de Producción Animal: Cerdos,  
Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. UNAN. México, D.F. 04510.

### INTRODUCCION

La pleuroneumonía ocasionada por Haemophilus pleuropneumoniae (Actinobacillus pleuropneumoniae) es una de las principales enfermedades respiratorias de los cerdos en México. Los primeros brotes de la enfermedad se observaron en 1976. A la fecha el único serotipo identificado era el serotipo 1 (1). Sin embargo se han observado diferentes cuadros clínico-patológicos asociados con infección por H. pleuropneumoniae. Existiendo diferencias importantes en la virulencia entre los serotipos: el tipo 1 se asocia con brotes severos causantes de alta mortalidad, mientras que los serotipos 2 y 3 se relacionan con brotes de baja morbilidad y baja mortalidad (2).

Se han identificado hasta el momento 10 serotipos distintos de H. pleuropneumoniae (3) y aparentemente esta lista sigue creciendo dado que en estudios de tipificación con frecuencia se encuentran aislamientos no tipificables (4). La distribución de estos serotipos varían de un país a otro y de un continente a otro. El serotipo 8 y 9 no han sido identificados en el continente americano (5).

El objeto del presente trabajo fue el aislar y tipificar H. pleuropneumoniae recuperados de 114 pulmones neumónicos de cerdos procedentes de 9 estados de la República Mexicana.

### MATERIAL Y METODOS

Se estudiaron 114 pulmones de cerdo de los cuales 74 se obtuvieron de animales con pleuroneumonía procedentes de granjas porcinas de 9 estados de la República Mexicana: Jalisco (20), Michoacán (15), Guanajuato (13), Puebla (11), Estado de México (9), Sonora (3), Querétaro (1), Yucatán (1), D.F. (1) y 40 con diferente tipo de neumonía procedentes de cerdos sacrificados en un rastro del Distrito Federal. Los aislamientos corresponden con muestras obtenidas de 1984 a 1988.

Los pulmones se sembraron en gelosa sangre con cepa nodriza de Staphylococcus aureus, se incubaron a 37 C durante 24 horas y se identificaron de acuerdo a la técnica descrita por Biberstein (6). Los cultivos identificados como H. pleuropneumoniae se tipificaron por prueba de e en placa, utilizando antisueros preparados en conejo, con cepas tipo (1 a la 9) proporcionadas por el Dr. Nicolet (Inst. Vet. Bact. Univ. Berne, Switzerland).



## RESULTADOS Y DISCUSION

Se aisló H. pleuropneumoniae de 64 pulmones con lesiones de pleuroneumonía de los diferentes estados de la República Mexicana estudiados (ver cuadro 1). Lo que indica que la pleuroneumonía por H. pleuropneumoniae esta ampliamente difundida en el país.

De los 40 pulmones obtenidos en el rastro no se aislo H. pleuropneumoniae de ninguno, sin embargo se recupero Pasteurella multocida y abundantes enterobacterias esto aparentemente se debió a la contaminación de las muestras y a que las lesiones observadas correspondieron con pleuroneumonía y bronconeumonía crónicas en las cuales se reduce considerablemente la posibilidad de aislar H. pleuropneumoniae aun en casos positivos.

El principal serotipo aislado fue el 1 el cual se considera responsable de los brotes mas severos de pleuroneumonía en el campo (2). Seis de los aislamientos no pudieron ser tipificados y 2 mas correspondieron con serotipo 8 el cual no han sido identificado previamente en el continente americano (5); actualmente se esta trabajando para verificar si los 2 aislamientos corresponden con serotipo 8 o es reacción cruzada con 3 o 6 y tipificar los 6 aislamientos no identificados.

## REFERENCIAS.

1. Medina AG, Ponce C, Torres O, Camacho J, Ciprian A y Pijoan C: Serotipificación de H. pleuropneumoniae aislados en el rastro de ferreteria, México, D.F. Memorias de la reunión de investigación pecuaria México. p 59 (1985).
2. Desrosiers R, Caron EW, Cie L: Control of porcine pleuropneumonia in finishing units. Proc. Int. Pig. Vet. Soc. Barcelona Spain, p 272 (1986).
3. Nielsen R. Serological characterization of Haemophilus pleuropneumoniae (Actinobacillus pleuropneumoniae) strains and proposal of a new serotype: serotype 10. Acta vet. Scand., 26, 581-585 (1985).
4. Mittal KR, Higgins R, Lariviere S and Martineau GP: Use of co-agglutination test for Direct detection and serotyping of Haemophilus pleuropneumoniae. Ann. Meet. Am. Ass.Swi Prac. Des Moines, Iowa, p 28-33. (1985).
5. Schultz RA: Compendium on Swine Haemophilus pleuropneumoniae. Ann. Meet. Am. Ass.Swi Prac. Des Moines, Iowa, pp 10,19,30. (1985).
6. Biberstein EL, Gunnarson A and Hurvell B: Cultural and biochemical criteria for the identification of Haemophilus spp from swine. Am. J. Vet. Res. 38: 7-11 (1977).

CUADRO 1.- SEROTIPOS DE *Haemophilus pleuropneumoniae*

ESTADO	Nº DE MUESTRAS	SEROTIPO									
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	0
Jalisco	20	8	1	2	-	1	-	-	1	-	3
Michoacán	15	11	-	-	-	1	1	2	1	-	1
Guanajuato	13	11	-	-	1	1	-	-	-	-	1
Puebla	11	3	1	1	1	1	-	-	-	-	1
Edo. Mex.	9	4	-	-	-	2	-	-	-	-	-
Sonora	3	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Querétaro	1	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Yucatán	1	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-
D.F.	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Rastro	40	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<b>TOTAL</b>	<b>114</b>	<b>39</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>2</b>	<b>7</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>2</b>	<b>0</b>	<b>6</b>

0 = aislamientos no tipificables.