



UNIVERSIDAD DE MURCIA

ESCUELA INTERNACIONAL DE DOCTORADO

Determinación de la Presencia de *Actinobacillus Pleuropneumoniae* y su Relación con las Medidas de Bioseguridad en el Control de Signos Clínicos de la Enfermedad en Explotaciones Porcinas Brasileñas

**Dña. María Nazaré Torres Simoes Lisboa
2019**



DETERMINACIÓN DE LA PRESENCIA DE *Actinobacillus pleuropneumoniae* Y SU RELACIÓN CON LAS MEDIDAS DE BIOSEGURIDAD EN EL CONTROL DE SIGNOS CLÍNICOS DE LA ENFERMEDAD EN EXPLOTACIONES PORCINAS BRASILEÑAS

PROGRAMA DE DOCTORADO EN CIENCIAS VETERINARIAS

MARÍA NAZARÉ TORRES SIMOES LISBOA

2019

ÍNDICE

1. Introducción.....	1
2. Revisión bibliográfica.....	5
2.1 Historia de la Pleuroneumonía Contagiosa Porcina	7
2.2. Etiología	7
2.3 Patogenia	10
2.4 Epidemiología	15
2.5 Signos clínicos	21
2.6. Diagnóstico y caracterización del agente	23
2.6.2. Bioquímica	24
2.6.3. Métodos moleculares.....	26
2.7. Tratamiento y resistencia a los antimicrobianos	27
2.8 <i>Control y Prevención</i>	33
2.8.1 Bioseguridad	33
2.8.2. Profilaxis antibiótica y vacunal	36
3. Material y métodos	45
3.1 Datos productivos y al sacrificio	56
3.1 Granjas y animales.....	47
3.2. Diagnóstico	57
3.2.1. Determinación de presencia de sintomatología clínica relacionada con pleuroneumonía	57
3.2.2. Identificación	58
3.2.3. Métodos moleculares. PCR.....	61
3.2.3.1. Protocolo de aislamiento de ADN	62
3.2.3.2. Caracterización genotípica	62
3.3.1 Evaluación de la Bioseguridad: sistema “Semáforo”	65
3.3.2 Definiciones utilizadas en el sistema de evaluación	67
3.4. Método estadístico.....	69
4.1. Identificación de signos clínicos	73
4.2 Análisis de parámetros productivos	76
4.2.2 Análisis de datos productivos en transición	81
4.2.3 Análisis de datos productivos en cebo	84

4.2.4 Diferencias económicas entre grupos	89
4.3 Identificación de la bacteria en las granjas	91
4.3.1. Identificación de la presencia de App mediante PCR para serogrupos	91
4.3.2. Identificación de la presencia de App mediante PCR para serotipos	93
4.3.3 Cultivo del patógeno e identificación por gran	96
4.4. Resultados del perfil de sensibilidad a los antimicrobianos	104
4.4.1 Número de resistencias simultáneas por serotipos	107
4.4.2 Resistencias por serotipos y antibiótico	114
4.4.3 Patrones de resistencias por serotipos	117
4.4.5. Evolución de las resistencias en la granja G	119
4.5 BAJAS EN TRANSPORTE Y DECOMISOS EN MATADERO RELACIONADOS CON PLEURITIS	121
4.6 Evaluación de bioseguridad.....	128
4.6.1 Resultados de la auditoría de bioseguridad mediante el sistema semáforo.	128
4.6.2 Estudio de cada factor individual dependiendo de la presencia de signos clínicos	132
4.6.3 Análisis de riesgo para bioseguridad externa.....	143
5. Conclusiones.....	149
6. Resumen	153
7. Abstract.....	157
8. Referencias bibliográficas.....	161
9. ANEXOS.....	183

AGRADECIMIENTOS

**A Dios por mi vida y oportunidades.
A mis padres (in memoria) por el amor
y confianza en mí depositados durante
toda mi existencia. Mi eterno amor y
agradecimiento.**

Al Profesor Manuel Guillermo Ramis Vidal, por la orientación, apoyo, paciencia y persistencia que me incentivó en todos los momentos de trabajo. Mi eterna gratitud.

Al profesor Antonio Muñoz por el apoyo que recibí al abrirme las puertas haciendo posible que tras años como profesional de campo vuelva a la Universidad.

A la Universidad de Murcia por la oportunidad de realizar este trabajo.

Al profesor y amigo Santiago Martín Rillo (in memoria) por sus palabras e incentivo para seguir estudiando.

La empresa TOPIGS NORSVIN que colaboró con este trabajo permitiendo uso de las informaciones de sus granjas y metodología de semáforo de bioseguridad.

Las granjas y las personas involucradas que me ayudaron en todos los momentos que precise. Muchas Gracias.

A mi colega Adriana Pereira por su apoyo, colaboración y dedicación.

A los clientes y compañeros de trabajo de Consuitec que me apoyaron en este proyecto.

A los amigos que conquisté durante esta etapa y a los que me incentivaron para desarrollar este trabajo.

A mi familia por lo cariño, paciencia y confianza. Muchísimas gracias.

1. Introducción

1. INTRODUCCIÓN

La porcicultura moderna presenta cada día una evolución en sus técnicas de producción y diagnóstico. Por lo que algunos agentes causantes de las enfermedades están actuando de forma distinta a la tradicional. Estos agentes patógenos están presentes y asumen importancia económica, aumentando el riesgo de que los animales se infecten, enfermen y mueran. La pleuroneumonía porcina causada por *A. pleuroneumonía (App)*, que afecta tradicionalmente a cerdos en crecimiento, se trata de una enfermedad contagiosa distribuida en los principales países de producción porcina, causando pérdidas económicas significativas. Los primeros casos clínicos de pleuroneumonía porcina en Brasil fueron descritos en la década de 80. Sin embargo, desde esa época hasta en momento sigue todos los esfuerzos destinados al control de la enfermedad a través de estudios en diagnóstico, tratamientos, vacunas y erradicación.

La pleuroneumonía porcina compromete los resultados económicos de producción causando mortalidad, danos por perdida de desempeño, gastos con antibióticos y vacunas. También se puede manifestar en la forma crónica, en la cual los signos clínicos son menos evidentes, pero causando pérdidas relativas en la producción y en lesiones de pulmones en animales al sacrificio (pleuresía, adherencias y abscesos pulmonares) que son comúnmente observadas producido condenaciones total o parcial de carcasas en matadero que puede variar entre 0,5 – 7,0 % de pérdidas.

Aislamiento y antibiograma de agente son importantes para definir la estrategia de tratamiento de los animales enfermos. En algunas granjas en sistemas intensivos de producción en Brasil prevalecen los serotipos 3, 5, 7 y 12. El serotipado también es una importante herramienta epidemiológica para monitorear y controlar la pleuroneumonía porcina.

Los brotes clínicos de la enfermedad se controlan relativamente bien, pero en algunos casos si pueden ser un problema que requiere distintas alternativas de actuación incluido tratamientos y medidas de manejo.

Actualmente con las restricciones de uso de antibióticos en producción animal, en especial en producción porcina si hace pensar no concepto de medicina preventiva.

Destacando importantes adecuaciones en flujo de producción, sistema de producción y medidas de bioseguridad para promover y garantizar la salud en los rebaños porcino.

Poco se conoce sobre la capacidad de influencia de las prácticas de bioseguridad pueden prevenir y controlar enfermedades. Sin embargo, las medidas de bioseguridad en explotaciones porcinas pueden impactar positivamente en la salud y bien estar animal y en los resultados económicos.

Brasil es hoy el quinto productor mundial de porcino, con una industria cada vez más desarrollada y concentrada sobre todo en el sureste del país. Conocer la realidad de la pleuroneumonía es crucial para poder establecer programas de control y erradicación.

2. Revisión bibliográfica

2. REVISION BIBLIOGRAFICA

2.1 Historia de la Pleuroneumonía Contagiosa Porcina

La enfermedad y su agente etiológico *A. pleuropneumoniae* ha sido motivo de estudio desde mediados de la década de los 60. Sin duda, es uno de los patógenos pulmonares bacterianos más importantes en los rebaños porcinos. El primer relato ocurrió en abril de 1961 en la ciudad de La Plata, Argentina donde en un brote causó la muerte de 260 animales entre 20 – 60 kilos y también afectó a animales adultos.

El nombre de agente en la época propuesto por (Shope *et al.*, 1964) fue *Haemophilus pleuropneumoniae*, cuando aisló una bacteria dependiente de Nicotinamida Adenina Dinucleotido (NAD) o factor V a partir de pulmón de cerdo con una extensa neumonía lobar y pleuritis fibrinosa. Esta especie bacteriana fue posteriormente llamada *A. pleuropneumoniae* por la conclusión a que se llega mediante un estudio de similitud genética con la especie *A. lignieressi* (Pohl *et al.*, 1983).

Bertschinger *et al.*, en 1978, descubren estirpes no dependientes de NAD, también clasificadas como *A. pleuropneumoniae* biotipo 2, y denominadas inicialmente “*Pasteurella hamolytica-like*”. Pero cinco años más tarde, se concluyó que estas estirpes presentaban similitudes fenotípicas las estirpes de *A. pleuropneumoniae* biotipo 1 descrita en la época como *H. pleuropneumoniae*. Además se determinó que entre ambos biotipos había una gran proximidad filogenética, lo que no justificaba la creación de una subespecie (Schaller *et al.*, 1999).

2.2. Etiología

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

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

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

El aislamiento del microorganismo de animales crónicamente infectados, normalmente se complica por la contaminación con otros agentes de crecimiento más rápido (Nicolet, 1986). Existen, actualmente, 15 serotipos o variedades descritos. Sin embargo, hay diferencias de patogenicidad entre los serotipos. En América del Norte, los serotipos más comúnmente aislados en casos clínicos son el 1, 5 y 7. En México, los serotipos 1 y 5 son predominantes. En Canadá y en EEUU, las granjas de alto status sanitario pueden ser libres de todos los serotipos de App. Pero la mayoría de las granjas comerciales están infectadas con uno o varios serotipos de baja patogenicidad.

App presenta diferentes factores de virulencia. Entre ellos se incluyen la cápsula, la pared bacteriana (LPS) y las toxinas. Generalmente, las toxinas son consideradas como los principales factores de virulencia, responsables de la mayor parte de las lesiones pulmonares y tóxicas para los macrófagos alveolares. Son denominadas ApxI, ApxII y ApxIII (Tabla 1). Sin embargo, recientemente fue descrita otra toxina (ApxIV), producida por todos los serotipos solo "in vivo", y que a pesar de su impacto sobre la enfermedad aún no se había descubierto. Pero, si el papel de esta toxina en la patogénesis de la infección no se conoce, animales convalecientes producen anticuerpos contra ella. Las cepas que no producen todas las toxinas (según su serotipo) son menos virulentas.

Tabla 1. Producción de toxinas por los diferentes serotipos de *A. pleuropneumoniae*

<i>Serotipos de App</i>	<i>Producción de toxinas*</i>		
	ApxI	ApxII	ApxIII
1, 5, 9, 11	Si	Si	Si
2, 4, 6, 8, 15	No	Si	Si**
3	No	Si	Si
10, 14	Si	No	No
7, 12, 13	No	Si	No

* Todos los serotipos producen ApxIV

** Las cepas de serotipo 4 aislada en Canadá (las únicas en América de Norte) no producen ApxIII (observaciones no publicadas).

Como un ejemplo, las cepas europeas de serotipo 2 se aíslan frecuentemente en casos clínicos, pero las cepas del mismo serotipo en América del Norte se aíslan más frecuentemente a partir de animales portadores, y en general, difícilmente se encuentran en casos clínicos. En estudios recientes, en laboratorios de Canadá se ha demostrado que las cepas norteamericanas no producen una de las toxinas (ApxIII) y son avirulentas cuando se inoculan experimentalmente en cerdos. Existen, actualmente, técnicas sofisticadas de laboratorio que permiten que se detecten rápidamente los genes responsables de la producción de toxinas, siendo ésta una indicación indirecta de la virulencia del aislamiento.

Como ya se mencionó, App se puede clasificar en dos biotipos dependiendo de la dependencia de NAD. Este dato es uno de los más importantes para los especialistas en diagnóstico que para los veterinarios de campo. Sin embargo, estos últimos deben estar atentos al hecho de que las cepas clasificadas como biotipo II, muchas veces son consideradas como App atípico y pueden causar problemas clínicos en el campo (Maldonado *et al.*, 2009).

Ocasionalmente estas cepas no pueden ser aisladas de animales portadores, con la utilización de los procedimientos normalizados para la detección de cepas típicas del biotipo I. De hecho, las cepas de biotipo II no tiene los patrones típicos de crecimiento observados en los App de biotipo I (bien conocidos por la mayoría de los veterinarios), siendo que las colonias son semejantes a las de *A. suis*, lo que complica el diagnóstico de los casos clínicos. Actualmente, tenemos 15 serotipos de App diferenciables por la composición de sus polisacáridos capsulares. De estos, los serotipos 1 al 12 y el 15 se han clasificado como App de biotipo I, y los serotipos 13 y 14, como atípicos del biotipo II.

Algunas cepas de los serotipos 2, 4, 7 ó 9, descritos principalmente en Europa (Maldonado *et al.*, 2009) también pueden ser clasificadas como atípicas del biotipo II. Para complicar un poco más las cosas, puede haber excepciones, como, por ejemplo, las cepas de serotipo 13, biotipo I (App típico), que fueron recientemente aisladas en Canadá y en los EEUU. Algunos serotipos compartirán antígenos comunes (a nivel de los lipopolisacáridos o LPS). Esos antígenos son usados, actualmente, en test serológicos y clasificados en grupos serológicos: serotipos 1, 9 y 11; serotipos 3, 6, 8 y 15; serotipos 4 y 7. La diferenciación del serotipo 5 en 5a e 5b no tiene aplicación práctica (diferencias antigénicas mínimas) y ambos tienen un potencial de virulencia similar.

Algunas cepas de los biotipos I y II, que no pueden ser tipificadas, también se han aislado de casos clínicos en los EE.UU. y en Europa (datos no publicados pero citados en diversas publicaciones de Gottschalk). Pero son extremadamente raras y hay que tener mucho cuidado cuando algunas de ellas son aisladas de cerdos sanos, una vez que se puede tratar de diferentes especies de App.

2.3 Patogenia

La patogenia de App es compleja por presentar varios factores de virulencia capsula de polisacáridos (CPS) y lipopolisacáridos (LPS), proteínas de membranas y exotoxinas (Frey, 1995). El período de incubación puede ser muy variable. La infección

experimental con distintas cepas virulentas en cerdos puede provocar una pleuroneumonía fatal en solamente 6 horas (Gottschlak y Broes, 2011).

Después de la exposición por contacto oronasal o inhalación, el App primero coloniza la superficie de las células epiteliales y en seguida las criptas de las amígdalas (Chiers *et al.*, 1999). Las células epiteliales colonizadas se vacuolizan y descaman que, junto con la transmigración de neutrófilos, distienden las criptas amigdalares. En contraste, el App no se une bien al epitelio ciliado de la tráquea o de los bronquios (Bossé *et al.*, 2002); aunque puede ocurrir excepcionalmente en la tráquea de los recién nacidos (Auger *et al.*, 2009). Cuando alcanza el tracto respiratorio inferior, el agente puede adherirse a los neumocitos que recubren los alvéolos (Bossé *et al.*, 2002; Van Overbeke *et al.*, 2002). La colonización depende de la adhesión bacteriana en la célula que parece esta mediada por polisacáridos y proteínas (Van Overbeke *et al.*, 2002). La evidencia de otras interacciones entre patógeno y célula huésped sugiere que la adherencia es un proceso complejo y multifactorial (Bossé *et al.*, 2002). El núcleo de oligosacáridos de LPS parece jugar un papel importante en estos fenómenos de adherencia (Chiers *et al.*, 2010). Se ha demostrado la presencia de fimbrias proteicas y subunidades fimbriales en la superficie de App (Zhang *et al.*, 2000). Sin embargo, su papel final de adhesión sigue sin ser completamente dilucidado.

Una vez en el ambiente del tracto respiratorio, ciertos nutrientes bacterianos son escasos, particularmente el hierro. App expresa una serie de factores que están involucrados en la adquisición y la captación de hierro (Chiers *et al.*, 2010; Jacques, 2004). Entre otros mecanismos, el patógeno es capaz de utilizar transferrina porcina y compuestos hemáticos que incluyen el grupo hemo, hemina, hematina y hemoglobina libre, así como sideróforos (Bossé *et al.*, 2002; Chiers *et al.*, 2010; Jacques, 2004). En cerdos que son portadores de cepas virulentas de App en tonsilas, el aparato mucociliar normalmente elimina las bacterias que son inhaladas. Esto impide el acceso de App y la replicación posterior en alvéolos, paso esencial para el desarrollo de la pleuroneumonía. Los factores que aumentan o reducen la función del aparato mucociliar son necesarios para permitir que suficientes bacterias lleguen a los alvéolos y que, por tanto, se desarrolle posteriormente de la enfermedad.

Las dosis altas de App inhaladas en forma de partículas finamente atomizadas pueden hacer que estas bacterias alcancen los alvéolos. Esto es más probable durante

brotos agudos cuando los cerdos enfermos están eliminando grandes cantidades de App. Alternativamente, los cilios pueden dañarse al ser colonizados por *M. hyopneumoniae*, por la replicación del virus de Enfermedad de Aujeszky o del virus de la Influenza en las células epiteliales traqueales y bronquiales. Marois *et al.* (2009) demostraron que la inoculación experimental de cerdos de 10 semanas de edad con una cepa de App serotipo 9 produjo enfermedad solo en cerdos previamente expuestos a *M. hyopneumoniae*, mientras que fue incapaz de producirla en cerdos control no expuestos. Otros factores también pueden afectar la función ciliar, como el enfriamiento o los niveles altos de amoníaco en ambiente. Se hay sugerido que los brotes de App en granjas endémicas podrían ser causados por una neumonía por otras causas, desencadenante, en cerdos previamente infectados (Klinkenberg *et al.*, 2014).

Una vez en los alvéolos, se establece una batalla entre el huésped y los mecanismos inmunes innatos y adquiridos de los alveolos y los factores de virulencia de App para superarlos, determinando si el App muere o causa la pleuroneumonía. Inicialmente, el LPS en la superficie del App actúa como un potente atrayente de macrófagos y neutrófilos, además de estimular a los macrófagos alveolares del huésped para secretar citocinas proinflamatorias. Recientemente, se demostró que una expresión local de citocinas proinflamatorias durante la infección por App desempeñaría un importante papel en la patogenia de la pleuroneumonía porcina (Brogaard *et al.*, 2015). De hecho, estas citocinas activan los macrófagos y aumentan la permeabilidad vascular inundando los alvéolos con proteínas séricas antibacterianas, incluidos el complemento y las IgG anti-App (de origen materno, vacunados o expuestos previamente). App tiene varias estrategias para resistir estas respuestas del anfitrión. La cápsula bacteriana de polisacáridos inhibe la fagocitosis como se ha demostrado por la caracterización de mutantes no capsulados isogénicos no virulentos (Rioux *et al.*, 2000) y las cepas de mayor virulencia tienen la capacidad de producir una mayor cantidad de capsula que previene la fagocitosis (Utrera, 2016). Tanto los macrófagos como los neutrófilos pueden fagocitar el App solo en presencia de suero de cerdo convaleciente debido a la actividad opsónica de las IgG específicas (Bossé *et al.*, 2002). App también es resistente a la acción del complemento (Ward e Inzana 1994; Rioux *et al.*, 2000). Los factores más importantes involucrados en el compromiso de la función fagocítica tanto de los macrófagos como de los neutrófilos son las toxinas

secretadas de la proteína RTX ApxI, ApxII y ApxIII (Frey, 2003). ApxI es fuertemente hemolítico y citotóxico, ApxII es débilmente hemolítico y moderadamente citotóxico, y ApxIII es no hemolítico, pero fuertemente citotóxico (Frey 2003). Se ha demostrado que la toxina ApxI induce apoptosis en macrófagos alveolares porcinos (Chien *et al.*, 2009). Además, ApxIII es altamente tóxico para células mononuclear de sangre periférica. En general, las cepas de serotipos 1, 5, 9, y 11 producen ApxI y ApxII, las cepas de los serotipos 2, 3, 4, 6, 8, y 15 producen ApxII y ApxIII, las cepas de serotipos 7, 12, y 13 producen sólo ApxII y los serotipos 10, 14, y 16 producen sólo ApxI (Gottschalk *et al.*, 2003a, Sárközi *et al.*, 2015). Las cepas de serotipo 3 secretan niveles bajos de ApxII. Una cuarta toxina (ApxIV) es producida solo *in vivo* por todos los serotipos (Schaller *et al.*, 1999). El posible papel de esta toxina en el daño a los fagocitos aún está sin dilucidar (Frey, 2003). Utilizando un mutante knockout de ApxIV se ha observado que dicha toxina debería ser esencial para la expresión de la virulencia total de App, aunque se necesitan más estudios que lo corroboren. Sin embargo, se ha sugerido que hay otros factores de virulencia con papeles importantes en la patogénesis de la infección, tales como las proteínas de membranas, las proteasas, y muchos de los genes que se codifican durante la infección, pero en algunos casos tal función aún no es conocida (Chiers *et al.*, 2010). La capacidad de App para formar biofilms con una cierta implicación durante la infección y la colonización también ha sido establecida como parte de la patogénesis de la infección (Roberts *et al.*, 2015). Finalmente, se ha procedido a la secuenciación de genoma y análisis preliminar de las cepas pertenecientes a los serotipos 2, 3, 5, 6, 7 y 8 (Foote *et al.*, 2008; Gouré *et al.*, 2009; Xu *et al.*, 2008; Zhan *et al.*, 2010; Pereira *et al.*, 2015; Li *et al.*, 2016). El análisis de las funciones de la proteína codificada mejorará el conocimiento actual sobre el metabolismo y virulencia de este patógeno. Los daños en pulmones se extienden debido, principalmente, a los efectos combinados de las citocinas en las variedades de las células de pulmón (Frey, 2003) y a la respuesta inflamatoria del huésped estimulada por el LPS. Los fagocitos son atraídos por las quimiocinas inducidas por LPS y Apx. Los macrófagos, se activan y secretan metabolitos tóxicos de oxígeno, y los macrófagos, así como los neutrófilos, se lisan por efecto de las toxinas Apx y liberan enzimas lisosomiales, que dañan aún más las células pulmonares. Los daños en las células endoteliales producen la activación de la vía de la coagulación, formándose

microtrombos y produciendo necrosis isquémica localizada (Bossé *et al.*, 2002). En la mayoría de los casos fatales de pleuroneumonía aguda, la muerte es causada por shock endotóxico debido a la absorción de grandes cantidades de LPS derivado de App.

Uno de los factores que afectan a la gravedad de la enfermedad son las diferencias de virulencia entre los serotipos o incluso dentro del mismo serotipo. En el campo, las cepas de los serotipos 1, 5 y 7 procedentes de América del Norte y de los serotipos 2 y 9/11 (siendo este último extremadamente difícil de diferenciar) de Europa, generalmente son más virulentas que las de otros serotipos. Se ha sugerido que tales diferencias se deben a la combinación de toxinas/hemolisinas (Frey 2003), a la estructura capsular (Jacques *et al.*, 1988) y a la composición de LPS (Jensen y Bertram 1986).

Además de la producción de ApxIV por todas las cepas, las cepas virulentas pueden producir dos toxinas en lugar de una. Curiosamente, se ha demostrado que las cepas atípicas que son más o menos virulentas que otras dentro de su serotipo, han agregado (más virulento) o perdido (menos virulento) una toxina Apx (Beck *et al.*, 1994; Gottschalk *et al.*, 2003a; Maldonado *et al.*, 2009). Sin embargo, no todas las diferencias en la virulencia se explican por los perfiles de toxinas de cápsula, LPS y Apx, como lo ejemplifican algunas cepas de serotipo 1 de baja virulencia que no tienen perfiles de CPS, LPS o toxina atípicos (Gottschalk *et al.*, 2003a). Se han realizado intentos, utilizando técnicas genéticas moleculares dirigidas hacia la toxina Apx y otras dianas génicas, para diferenciar los grados de virulencia en las cepas de App (Chatellier *et al.*, 1999; Møller *et al.*, 1992); sin embargo, actualmente no hay métodos para diferenciar definitivamente los niveles de virulencia de las cepas de App, aparte de los experimentos de inoculación en animales controlados. El resultado de la infección por App y la gravedad de los brotes, según lo determinado por el aumento de la morbilidad y la mortalidad, pueden verse afectados por varios factores.

Como ya se mencionó, la virulencia de la cepa y la presencia de otros patógenos como *M. hyopneumoniae*, el virus de Aujeszky y, probablemente, el virus de la Influenza porcina, impactan significativamente en la enfermedad. Curiosamente, los serotipos considerados de baja patogenicidad (como los serotipos 6, 8, 12 y 15, al menos en América del Norte) a veces pueden inducir bronconeumonía necrotizante o pleuroneumonía, especialmente en presencia de estos patógenos. De hecho, la misma

cepa puede comportarse como completamente avirulenta o inducir una enfermedad clínica grave en ausencia o presencia de una coinfección por *M. hyopneumoniae* (Marois *et al.*, 2009). La sinergia entre PRRSV y App es controvertida. Los primeros estudios experimentales mostraron que una coinfección no produce una enfermedad más grave (Pol *et al.*, 1997). Esto está de acuerdo con las observaciones de campo en áreas de infección endémica por PRRSV (como en ciertas regiones de Canadá) donde la incidencia de pleuroneumonía clínica no ha aumentado significativamente. Incluso se ha informado un efecto antiviral de los antígenos de App (Lévesque *et al.*, 2014). Sin embargo, también se ha sugerido cierto efecto de la coinfección para las infecciones agudas y crónicas (Fablet *et al.*, 2012; van Dixhoorn *et al.*, 2016). Factores tales como el mezclado de animales y las condiciones ambientales adversas, como los cambios rápidos de temperatura y la humedad relativa elevada junto con una ventilación insuficiente, también promueven el desarrollo y la propagación de la enfermedad y, en consecuencia, afectan la morbilidad y la mortalidad. Por lo tanto, no es sorprendente que se observe la mayor incidencia de brotes en cerdos en crecimiento y finalización, principalmente en rebaños donde se mezclan cerdos de numerosos orígenes y en temporadas con condiciones climáticas adversas. Otro factor fundamental es el estado inmune de los animales en relación con la infección. El serotipo de App también es importante, ya sea pasivo, convaleciente o vacunal. Los animales de rebaños convencionales que podrían haber estado en contacto con serotipos de App de baja virulencia o con *A. suis* pueden ser más resistentes a la infección de una cepa específica que los animales Specific Pathogen Free (SPF) que son negativos para todos los serotipos de App (observaciones no publicadas). Sin embargo, esto puede depender de la capacidad de los serotipos de colonización anteriores para inducir anticuerpos contra las toxinas producidas por la nueva cepa infectante.

2.4 Epidemiología

El App está ampliamente distribuido y solamente infecta a cerdos. Pero, recientemente se ha sugerido que una cepa de App fue capaz de infectar aves (Pérez Márquez *et al* 2014). Sin embargo, el reservatorio primario es el cerdo doméstico. En un estudio en Eslovenia, el 50% de los cerdos salvajes pueden presentar serología

positiva para App (Vengust *et al.*, 2006). Sin embargo, varios estudios en poblaciones de jabalís en Europa, América del Norte y Australia mostraron que esta especie es infectada frecuentemente por App (Reiner *et al.*, 2010; Hälli *et al.*, 2014; Pearson *et al.*, 2014; McGregor *et al.*, 2015). En Canadá, esta especie es positiva para serotipo 14, un tipo capsular no encontrado hasta el momento en cerdos domésticos en América del Norte (McGregor *et al.*, 2015). Se han notificado brotes de pleuroneumonía en cerdos domésticos de prácticamente todos los países europeos y de diferentes partes de los Estados Unidos, México, América del Sur, Japón, Corea, Taiwán y Australia. Curiosamente, ha habido un aumento simultáneo en la enfermedad clínica en los últimos años en muchos países europeos, como se refleja en el aumento de las adherencias pleuríticas crónicas en los mataderos (Hoeltig *et al.*, 2009; Sjölund y Wallgren 2010). Es posible que esto se deba al incremento de las edades de destetes exigidas por las nuevas leyes de bienestar, ya que se sabe que App es un colonizador tardío en lechones y el destete temprano reduce drásticamente las tasas de transmisión en cerdos destetados.

En cuanto la duración y transmisión, hay muy pocas ocasiones en las que el patógeno produzca una enfermedad sistémica (Jensen *et al.*, 1999; Madsen *et al.*, 2001; Ohba *et al.*, 2008; Ohba *et al.*, 2010), App es esencialmente un patógeno respiratorio porcino. En las infecciones agudas se puede encontrar no solo pulmones neumónicos sino también grandes cantidades de descarga nasal. Los supervivientes pueden permanecer como portadores subclínicos durante varios meses y encontrar lesiones crónicas principalmente en pulmones y amígdalas (Desrosiers, 2004). Con menos frecuencia, los animales portadores pueden alojar el agente en la cavidad nasal (Chiers *et al.*, 2010). El transporte subclínico de App en las amígdalas se produce no solo para las cepas de baja virulencia, sino también para las cepas de alta virulencia que a veces pueden estar presentes en rebaños bien manejados durante largos períodos sin signos clínicos o lesiones (Gottschalk, 2015).

Los factores estresantes ambientales o los patógenos respiratorios concurrentes pueden dar lugar a brotes clínicos repentinos. La transmisión entre rebaños se produce principalmente a través de la introducción de animales portadores. La principal ruta de propagación del agente es por contacto directo

nariz/nariz o mediante pequeñas partículas a corta distancia. Mover y mezclar animales aumenta los riesgos de propagación. En brotes agudos, la infección puede contagiarse a todos los corrales, lo que no sugiere el posible papel de aerosoles y el movimiento de aire en la transmisión de la enfermedad a larga distancia y entre los edificios o en la transmisión indirecta a través de los trabajadores contaminados por tener contacto con exudados a partir de cerdos con infecciones agudas. Hay estudios que confirman que *A. pleuropneumoniae* puede ser transmitido por aerosol a corta distancia (Desrosiers, 2004; Jobert *et al.*, 2000). Kristensen *et al.* (2004b) relatan que la transmisión aérea entre unidades de cerdos ubicadas cerca es posible, pero poco habitual. Zhuang *et al.* (2007), en contraste, sugieren que el App serotipo 2 en Dinamarca fue transmitidos a granjas de reproductores SPF desde granjas vecinas contaminadas.

La introducción de la enfermedad por inseminación artificial o transferencia de embriones es altamente improbable, debido a que el aparato genital no es un sitio común de infecciones y los antimicrobianos que hay en los diluyentes del semen o en el fluido de lavado de embriones pueden prevenir la persistencia del agente. Los pájaros y roedores son considerados una fuente improbable de infección y transferencia de App. El papel en la transmisión de fómites y materiales contaminados por App es irrelevante.

En granjas endémicamente infectados por *A. pleuropneumoniae* se transmite por las cerdas infectadas a su descendencia de forma vertical inmediatamente tras el nacimiento. La frecuencia de transmisión probablemente está relacionada con la cantidad de bacterias liberadas por las cerdas, sin embargo, son necesarios estudios cuantitativos sobre este punto. En un estudio reciente se ha demostrado que, aunque la mayoría de las cerdas hayan sido colonizadas, solamente algunas camadas y algunos lechones dentro de una camada se infectarán (Tobias *et al* 2014). El nivel de anticuerpos maternos contra los de LPS, sin embargo, parece estar correlacionado positivamente con una colonización tardía (resultados no publicados). La persistencia de los anticuerpos calostrales en lechones varía entre 2 semanas a 2 meses de edad, según el nivel inicial de los anticuerpos calostrales adquiridos o el antígeno utilizado en la prueba, y de los tests serológicos utilizados (Vigre *et al.*, 2003; observaciones no

publicadas). Usualmente, sólo a unos pocos lechones se infectan a partir de sus madres durante el periodo tardío de lactación y la diseminación horizontal ocurre después del destete con la disminución de la inmunidad materna que torna a los lechones más susceptibles (Vigre *et al.*, 2002) o si se mezclan con otros grupos de cerdos. Sin embargo, la supervivencia del agente en el ambiente es de corta duración especialmente durante épocas calientes y secas. Pero, cuando está protegido con moco u otra materia orgánica, puede sobrevivir durante varios días (hasta semanas), y puede sobrevivir en agua limpia por períodos de hasta 30 días a 4°C. La mayoría de los desinfectantes comunes son eficaces contra App cuando se elimina la materia orgánica con un lavado completo y eficaz (Gutiérrez *et al.*, 1995).

La distribución de los serotipos involucrados en brotes agudos e infecciones crónicas en diferentes regiones del mundo es completamente distinta. Además, las cepas de un serotipo dado pueden ser altamente virulentas en una región y, sin embargo, cepas de ese mismo serotipo pueden ser de baja virulencia en otra región. Este dato es crítico cuando se realizan pruebas para App en cerdos importados antes de la introducción en un rebaño cerrado. Es importante utilizar pruebas de diagnóstico para los serotipos más importantes presentes y virulentos en su región de origen. Desafortunadamente, no son muchos los informes publicados durante los últimos 25 años sobre la distribución de los serotipos en animales enfermos recuperados (Gottschalk, 2015). Además, la prevalencia relativa de los serotipos puede cambiar dramáticamente a lo largo de los años como se describe en Corea y Canadá (Gottschalk y Lacouture, 2015; Kim *et al.*, 2016). En algunas regiones, predominan uno o más serotipos virulentos y causan la mayoría de los brotes: Esto es así con los serotipos 5 y 7 en América del Norte, los serotipos 2 y 9 en muchos países europeos y asiáticos, y el serotipo 15 en Australia, por nombrar algunos. Las cepas de serotipo 2 son altamente virulentas en los países europeos y asiáticos debido a la secreción de ApxII y ApxIII, pero las cepas de serotipo 2 en América del Norte secretan solo ApxII y son de baja virulencia (Gottschalk *et al.*, 2003a). El serotipo 4 es uno de los serotipos virulentos más frecuentes en España, pero es poco común en la mayoría de los otros países (Maldonado *et al.*, 2009). Este serotipo se aisló una vez de animales asintomáticos en Canadá (Lebrun *et al.*, 1999), pero no hay otros informes de cepas de serotipo 4 en

América del Norte. El serotipo 15, descrito originalmente en Australia, es el predominante en este país (Blackall *et al.*, 2002), pero también se ha encontrado ocasionalmente en América del Norte y del Sur (Gottschalk *et al.*, 2003a; Gottschalk y Lacouture, 2014), así como en Japón (Koyama *et al.*, 2007). El serotipo 8 es el más predominante en el Reino Unido y en ocasiones se ha aislado de cerdos enfermos en América del Norte y Japón (Koyama *et al.*, 2007; Gottschalk y Lacouture, 2014; Li *et al.*, 2016). Las cepas de Biotipo II son más comúnmente aisladas en algunos países europeos; sin embargo, estas cepas se reportan ocasionalmente en América del Norte (Frank *et al.*, 1992; Gottschalk *et al.*, 2003a). Las cepas de Biotipo II han sido tradicionalmente consideradas de baja virulencia; sin embargo, hay informes de su aislamiento en varios casos de pleuroneumonía fatal (Gambade y Morvan, 2001). Maldonado *et al.*, (2009) informaron que el 25% de los aislamientos de cerdos enfermos recuperados en España pertenecían al biotipo II, de los cuales los serotipos 7, 2, 4 y 11 eran los más comunes. La mayoría de los rebaños convencionales están infectados con uno o más serotipos de App, y aunque estas cepas son frecuentemente de baja virulencia, pero también pueden estar presentes cepas de alta virulencia (Gottschalk *et al.*, 2003a). La mayoría de los serotipos prevalentes (detectados por serología) a menudo son diferentes de los cerdos enfermos recuperados (Gottschalk, 2015). En un informe español, casi 90% de los rebaños estudiados fueron seropositivos para App, y muchos de ellos presentaban lesiones pleuríticas en el matadero, aunque no se estudió la distribución de los serotipos involucrados (Fraile *et al.*, 2010). En un estudio canadiense, el 78% de los rebaños fueron positivos para App según la detección por PCR en el tracto respiratorio superior de lechones (MacInnes *et al.*, 2008). En el mismo estudio, el 70% de los rebaños fueron seropositivos por LPS-ELISA con la distribución de los serotipos como sigue: el 26% fue positivo para serotipo 7, 4, 17% para el 12, 15% para el 3, 6, 8, y 15, 6 % para 5, 4% para 2 y 2% para 1, 9 y 11. Aunque los serotipos 2, 12, 3, 6, 8 y 15 se consideran generalmente como de baja/intermedia virulencia (Gottschalk *et al.*, 2003a; Gottschalk 2015), los serotipos 7 y 5 son actualmente los serotipos más comunes en cerdos enfermos recuperados en Canadá (Gottschalk y Lacouture, 2015). Curiosamente, la mayoría de los rebaños incluidos en el estudio no presentaron signos clínicos de pleuroneumonía. En Reino Unido, el 27,3% de los aislados son serotipo 2, el 22,2% serotipo 8, serotipo 3 el 13,

1%, 14,1% serotipo 6, 16,2% serotipo 7, siendo los serotipos 5, 9, 10 y 12 raramente y el 1 y 4 ausente. Hay cierta prevalencia de los serotipos 6 y 8 en Gran Bretaña, mientras que en Irlanda el serotipo 2 es común y el 6 no se aísla.

En Brasil, la pleuroneumonía contagiosa apareció en la década de 80. En el periodo 1981-1993 fueron serotipificadas 55 muestras, de las cuales 30 pertenecían al serotipo 5, quince al serotipo 3 y siete al serotipo 7 (Piffer *et al.*, 1997). Los autores en la época demostraron que la mayor prevalencia fue del serotipo 5, seguido del 3 y 7 y un aumento de la aparición del serotipo 3 considerado menos virulento, cuya diseminación puede haberse producido por el comercio de animales. Ha habido un aumento del número de serotipos presentes en el país, de 1981-1985 fueron diagnosticados los serotipos 5 y 7, de 1986-1989, los serotipos 3, 5 e 7, en 1990-1993, los serotipos 1, 3, 5, 7 y 9. Y en 1993-2006 se encontraron los serotipos 1, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 10, 11 y 12, o sea, en este período, aparecieron serotipos que aún no habían sido registrados en Brasil (serotipos 4, 8 y 11). En 1999 se aisló por primera vez en Brasil el serotipo 12 y en el mismo año, mediante aglutinación rápida en placa, se encontró el serotipo 6, (9/24) (Costa, 1999). En 2002, se documentaron por primera vez brotes del serotipo 10 en Minas Gerais, aumentando desde ese momento los casos de App causados por este serotipo (Costa *et al.*, 2003). Hasta 1999, se hacían muchos aislamientos de los serotipos 3 y 5, pero de 2000 en adelante hubo una considerable disminución, sin embargo, los otros serotipos aumentaron su importancia. Lo que ocurrió es que las vacunas consiguieron disminuir la enfermedad clínica por los serotipos 3 y 5 en los rebaños afectados, donde fue posible hacer el diagnóstico de otros serotipos. En total, tomando todas muestras, se observa que el serotipo 5 es el más prevalente (59/399) seguido de los serotipos 3, 10, 6, 7, 4 y 8. En todo el período, hubo 171 muestras no serotipables, siendo la posible causa que algunas muestras perdieron la capacidad de producir cápsula, por limitación del método utilizado, por la presencia del serotipo 15 un otro serotipo aún no descrito. Esos resultados demostraron la dinámica epidemiológica entre los serotipos en Brasil por (Kuchiishi *et al.*, 2007). La tendencia, un tanto paradójica, de la alta seroprevalencia combinada con la baja prevalencia de la enfermedad destaca un concepto importante en la epidemiología de App. Las cepas de baja virulencia tienden a ser altamente

prevalentes en los rebaños, lo que resulta en una alta seroprevalencia. Sin embargo, las cepas altamente virulentas son transportadas por una proporción mucho menor de animales, lo que resulta en una menor seroprevalencia. Esto debe tenerse en cuenta al determinar el número de animales a ser analizados en los programas de vigilancia serológica. Las cepas que pertenecen al mismo serotipo han sido comparadas genéticamente. Aunque un perfil de genotipo dado no puede relacionarse claramente con un serotipo concreto (Gottschalk, 2015), varios estudios han demostrado una homogeneidad relativa dentro de un serotipo particular con uno o pocos clones representados (Møller *et al.*, 1992; Fussing, 1998; Chatellier *et al.*, 1999). Se necesitan más métodos de subtipo rápido, y se tiende a usar una combinación de métodos diferentes para llegar las conclusiones sobre las relaciones epidemiológicas (Rossi *et al.*, 2013). La secuenciación completa del genoma también se ha utilizado para comparar diferentes cepas que pertenecen al mismo serotipo (Pereira *et al.*, 2015).

2.5 Signos clínicos

Los signos clínicos varían con la edad de los animales, su estado inmunitario, las condiciones ambientales y el grado de exposición al agente infeccioso. El curso clínico puede ser hiperagudo, agudo o crónico (Gottschalk, 2015). Todas las etapas de la enfermedad, desde intermedia a fatal, subaguda o crónica, pueden desarrollarse dentro de un grupo afectado. En la forma hiperaguda, uno o más cerdos, en los mismos o diferentes corrales, enferman repentinamente con fiebre alta (41,5°C), apatía y anorexia. Algunos cerdos pueden presentar vómitos. Los animales afectados rechazan el movimiento anquen no haya signos respiratorios distintivos, aumenta la frecuencia cardíaca y falla la función cardiovascular. La piel de hocico, las orejas, las patas y, más tarde, todo el cuerpo presenta cianosis. En la fase terminal, hay una disnea grave, los animales respiran por la boca y permanecen en posición sentada (posición de “perro sentado”) y las temperaturas rectales están elevadas. Poco antes de la muerte, generalmente hay una descarga abundante, espumosa y sanguinolenta, a través de la boca y las narinas.

En la forma hiperaguda, también es común encontrar uno o más animales muertos sin ningún signo premonitorio y con una descarga nasal típica espumosa y sanguinolenta. Los estudios experimentales han demostrado que el curso de la enfermedad puede ser de tan solo 6 horas desde la infección hasta la muerte. En la forma aguda, muchos cerdos en la misma o diferentes cuerdas están afectados. La temperatura corporal aumenta a 40,5– 41°C, la piel puede enrojecerse y los animales están deprimidos, se resisten a levantarse, rechazan los alimentos e incluso se resisten a beber agua. La disnea, la tos y, a veces, la respiración por la boca, son evidentes. El curso de la enfermedad difiere de un animal a otro, dependiendo de la extensión de las lesiones pulmonares y el momento de inicio de la terapia (Gottschlak y Broes, 2011).

La pleuroneumonía porcina en la forma aguda también ocurre en rebaños o individuos no inmunes, que no hayan recibido inmunidad pasiva. Entre 15-30% los animales pueden sufrir depresión, anorexia y fiebre alta (41,5°C), dificultad respiratoria, especialmente en situaciones de estrés como el movimiento necesario para acercarse al punto de bebida para beber agua. Pueden presentar hipotermia, muerte entre 4-6 horas después de inicio de los signos clínicos. La mortalidad puede llegar al 30-50% en los cerdos afectados (Taylor, 2013). Se puede observar animales enfermos con depresión, cianosis, anorexia, fiebre, tos, disnea y/o taquipnea y algunas veces vómitos. En este último caso, los brotes pueden aparecer de forma concomitante a otras enfermedades o como resultados de alteraciones en el manejo de lote (Gottschalk *et al.*, 2012).

La forma crónica se desarrolla tras la desaparición de signos agudos o cuando el tratamiento o las medidas preventivas no pueden controlar completamente la infección y/o infecciones debidas a serotipos de virulencia intermedios. Hay poca o ninguna fiebre, y se desarrolla una tos espontánea o intermitente de intensidad variable. El apetito puede reducirse, y esto puede contribuir a disminuir la tasa de ganancia de peso. Los signos clínicos pueden exacerbarse por otras infecciones respiratorias bacterianas o víricas. También se han observado signos respiratorios leves atípicos con baja mortalidad que se asemeja a la influenza (Tobías *et al.*, 2009).

Las manifestaciones menos comunes se pueden ver en algunos brotes. La septicemia fatal es rara en esta enfermedad.

Los brotes clínicos de la enfermedad se controlan relativamente bien en EEUU y Canadá, pero en otros países aún pueden ser un problema. En América de Norte, el destete precoz practicado en grandes sistemas de producción, en muchos casos ayuda en el control de la enfermedad. Es verdad que en estos países se hacen grandes inversiones en monitorización de las infecciones subclínicas en las granjas de reproductores de selección genética, para controlar la enfermedad y mantener las granjas libres, sea de serotipos virulentos en granjas comerciales convencionales, o de todos los serotipos de App en granjas de alto status sanitario o SPF. Ocasionalmente, se han documentado algunos casos clínicos en granjas SPF o de alto estatus sanitario infectadas con serotipos poco virulentos (datos no publicados, comunicaciones personales). Hoy se puede afirmar que la introducción de material genético nuevo en las granjas comerciales atendiendo al estatus sanitario de las granjas núcleo y multiplicadoras, es una decisión difícil de tomar por los veterinarios.

2.6. Diagnóstico y caracterización del agente

A. pleuropneumoniae es aislado comúnmente de lesiones pulmonares, amígdalas y de forma menos frecuente, de otras partes del tracto respiratorio de los cerdos (Morés, 1987). El diagnóstico definitivo del proceso se basa en la presentación clínica de la enfermedad y observación de las lesiones, detección del agente mediante la cultura o coaglutinación directa en el tejido, inmunofluorescencia y inmunoperoxidasa, PCR de los pulmones o tonsilas (Muñoz et al., 2006).

2.6.1. MICROBIOLOGÍA

Las especies de *A. pleuropneumoniae* son bacilos Gran-Negativos (0,3 a 0,5 x 0,6 a 1,4 μm), inmóviles y que ocasionalmente poseen una apariencia cocobacilar. Estos microorganismos anaeróbicos facultativos fermentan carbohidratos y producen ácido, pero no gas (Quinn et al., 2005).

El *A. pleuropneumoniae* es usualmente aislado en el medio de cultivo agar sangre. Las colonias pueden ser de dos tipos, un tipo redondeado "de cera" y una

variedad plana, suave y brillante, siendo ambas hemolíticas. La reacción de la prueba de CAMP es positiva cuando se utiliza una estría de *Staphylococcus* productor de Beta toxina (Quinn et al., 2011).

Las cepas del biotipo I no crecen en el medio de agar sangre, a menos que contengan el NAD o a menos que el NAD sea suministrado por una estría de *Staphylococcus* betahemolítico, situación en que las colonias de App crecerán en proximidad inmediata como "satélites". El App forma colonias de 0,5 a 1 mm después de 24 horas de incubación con la estría de *Staphylococcus* betahemolítico, particularmente cuando se utiliza el agar sangre producido a partir de sangre de cordero (Pohl et al., 1983).

El App produce una zona de hemólisis aumentada dentro de la región de lisis parcial, alrededor de un *Staphylococcus aureus* beta-toxinogénico (el fenómeno de CAMP denominado así por *Christie, Atkins y Muench-Petersen*) (Nicolet, 1971; Kilian, 1976).

2.6.2. Bioquímica

Los criterios para la identificación de los aislados se describen como colonias pequeñas, rodeadas por una zona clara de hemólisis cerca del tramo de *S. aureus* (test CAMP positivo) y ningún crecimiento en agar MacConkey. Las pruebas de catalasa y oxidasa se presentan variables (Quinn et al, 2011; Váduva, 2010). El *A. pleuropneumoniae* presenta reacciones ácidas del proceso de fermentación frente a los sustratos para maltosa y sacarosa, reacciones variables para el manitol y negativas para L-arabinosa, lactosa, melibiosa, salicina y trehalosa (Quinn et al., 2005).

Este fenómeno CAMP está relacionado a la posesión, por medio de cepas de combinaciones de las tres citolisinas: ApxI, ApxII y ApxIII (Frey et al., 1994; Jansen et al., 1995).

Las características morfológicas y bioquímicas adicionales detalladas se pueden encontrar en relatos originales de Shope (1964) y Kilian et al. (1978). Las cepas del biotipo I deben diferenciarse de otros actinobacilos normalmente presentes en el tracto respiratorio superior de los cerdos (Kielstein et al., 2001; Gottschalk et al., 2003b). Las cepas del biotipo II crecen fácilmente en placas de agar sin presencia del

NAD; las colonias se asemejan y deben diferenciarse de las del *A. suis* usando un panel de pruebas bioquímicas (Pohl et al., 1983).

Las características bioquímicas de *A. pleuropneumoniae* aparecen en la siguiente tabla:

Tabla 2. Características bioquímicas de *A. pleuropneumoniae*

<i>Característica</i>	<i>Presente/ausente</i>
Hemólisis en Agar Sangre ovina	+
Bacteria Gram negativa	Morfología: cocobacilo
Tipo de colonia en el Agar Sangre	No cohesión
Crecimiento en Agar MacConkey	-
Producción de Oxidasa	V
Producción de Catalasa	V
Hidrolisis de la Esculina	-
Producción de ácido a partir de:	
Maltosa	+
Lactosa	d
	-
Sacarosa	+
Melibiosa	-
Manitol	V
Salicina	-
L-Arabinosa	-
Trealosa	-
Test de CAMP con <i>S. aureus</i>	+
Producción de urea	+

Fuente: Quinn et al (2011).

2.6.3. Métodos moleculares

Para el control y monitorización de la pleuroneumonía ha sido necesario el desarrollo de métodos rápidos y precisos de diagnóstico. La identificación a través de técnicas de biología molecular se está empleando para identificar a los diferentes serotipos del App y también para eludir las dificultades muchas veces encontradas en la identificación del agente por las técnicas convencionales.

Sirois et al. (1991) desarrolló la metodología para detección de *A. pleuropneumoniae* mediante la prueba de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), utilizando el modelo de ADN purificado, así como en el caso del material bruto. El sistema de detección de ADN realizado a través de cebadores universales eubacterianos y con reacciones de oligómeros específicos, reconoció y detectó todos los serotipos probados, además de una cepa del biotipo 2 (independiente de factor V); el ensayo mostró una capacidad discriminatoria para todos los tipos de cepas estudiadas que pueden ser designadas como *A. pleuropneumoniae*.

Jessing et al. (2003), desarrolló una metodología vía PCR para identificación simultánea de especies y de los serotipos 2, 5 y 6 del *A. pleuropneumoniae*. La prueba se basó en las amplificaciones de regiones del ADN específicas del serotipo, involucrado en la biosíntesis de los polisacáridos capsulares (gen *cps*).

De Souza et al. (2008), evaluó la prueba de PCR por la identificación basada en el gen *cpx* del *A. pleuropneumoniae* y obtuvo mayor sensibilidad, en comparación con el aislamiento. La tipificación genética del *A. pleuropneumoniae* a través de la prueba de PCR, basada en las principales toxinas RTX – los genes de la toxina *Apx* – proporciona una metodología consistente para la confirmación de ambos: el grupo de serotipos basado en su virulencia potencial y la especie *Actinobacillus* (Frey, 2011).

Rayamajhi et al. (2005), desarrolló una prueba de PCR multiplex para la identificación y genotipado de *A. pleuropneumoniae* basado en los genes *Apx*. Esta técnica de PCR multiplex fue exitosa en la diferenciación de 11 de los 15 serotipos de referencia. Cinco conjuntos de cebadores diferentes se utilizaron para amplificar los genes de cuatro *Apx* de cada serotipo en una reacción de etapa única. La PCR multiplex reportada en este estudio se utilizó en el genotipo de 51 aislados de campo del *A.*

pleuropneumoniae y clasificó los aislados en tres grupos, de acuerdo con los estándares del producto amplificado. La amplificación concomitante de todos los genes *Apx* hace la PCR multiplex más específica y conveniente para el diagnóstico y genotipado del App, a pesar de que no es capaz de diferenciar los serotipos 2 y 8, los serotipos 5a y 5b, los serotipos 9 y 11 – como previamente se determinó en otro estudio dirigido a los genes *Apx*. Además, este estudio mostró patrones similares entre los serotipos 12 y 13, así como entre los serotipos 2, 8 y 15. Se observó un patrón único en el serotipo 14. Con la excepción de estos cuatro serotipos (2, 8 y 15; 5a y 5b; 9 y 11; 12 y 13), este estudio demuestra la necesidad de desarrollar ensayos del PCR multiplex para confirmación y serotipado del *A. pleuropneumoniae*. Con excepción de los serotipos 2, 8 y 15; 5a y 5b; 9 y 11; 12 y 13, este estudio introduce la necesidad de realizar más ensayos de PCR multiplex para confirmación y serotipado de *A. pleuropneumoniae*.

2.7. Tratamiento y resistencia a los antimicrobianos

La carne de cerdo es uno de los productos alimenticios más consumidos a nivel mundial. La producción porcina varía de sistemas altamente intensivos, con una producción a gran escala y eficiente incluso otra producción que es a pequeña escala. En ambos casos, las enfermedades pueden afectar significativamente el costo de producción. Por lo tanto, especialmente en la producción intensiva, el uso rutinario de antimicrobianos se ha convertido en una parte integral del sistema de producción. Los agentes antimicrobianos no solo se han utilizado para el tratamiento de cerdos clínicamente enfermos, sino también como parte del tratamiento de rutina para la profilaxis en animales de crecimiento (Aarestrup, 2008).

A menudo se dice que un cerdo enfermo sigue bebiendo, aunque haya perdido el apetito. En casos de App aguda esto no se cumple. Un tratamiento efectivo consiste en inyectar antibióticos de forma individual en cada animal enfermo y, en ausencia de los resultados laboratoriales, hay que elegir uno en base a la experiencia del clínico y a la disponibilidad de antibióticos, teniendo en cuenta sus patrones de sensibilidad. El

tratamiento seleccionado también dependerá de la edad de los cerdos y del tiempo de espera requerido.

Al considerar los programas terapéuticos para el tratamiento de la infección por *A. pleuropneumoniae*, deben definirse de acuerdo con los resultados del análisis de resistencia antimicrobianas disponible. Sin embargo, es necesario obtener información más actualizada, ya que los patrones de resistencia varían mucho con el tiempo y en diferentes regiones geográficas (Barcellos *et al.*, 2009). La elección del antimicrobiano de primera línea debe basarse en su concentración inhibitoria mínima (CIM), así como en sus propiedades farmacocinéticas y farmacodinámicas (PK / PD) (Gottschalk, 2012). A la hora de elegir un tratamiento, que será parenteral inicialmente en la mayoría de los casos, hay que tener en cuenta la experiencia del clínico y la disponibilidad de antibióticos, teniendo en cuenta sus patrones de sensibilidad.

El tratamiento seleccionado también dependerá de la edad de los cerdos y del tiempo de espera requerido. En toda Europa, los antibióticos más antiguos se han ido volviendo ineficaces y el tratamiento de la infección por App con penicilina, ampicilina/amoxicilina o tetraciclinas de primeras generaciones seguramente tendrá poca utilidad. Debido a las preocupaciones sobre las resistencias antibióticas, las cefalosporinas de tercera generación y las fluoroquinolonas sólo deben utilizarse como último recurso. Sin embargo, en un brote agudo de App, el ceftiofur de corta duración puede tener una eficacia notable, viendo cómo los cerdos más afectados responden en 60 minutos. Otros antibióticos eficaces serían el trimetoprim/sulfonamida, florfenicol, doxiciclina y la tulatromicina, aunque este último no debe utilizarse en cerdos cercanos al peso de sacrificio debido a su largo periodo de supresión. Las formulaciones de corta duración administradas durante 3 días pueden dar un mejor resultado en los casos agudos que las de liberación gradual. Los antiinflamatorios no esteroideos (AINEs) también pueden ayudar a los cerdos afectados. El tratamiento debe extenderse a todo el grupo mediante medicación en agua durante 5-7 días, siendo en este caso los más apropiados aquellos basados en florfenicol, trimetoprim/sulfonamida, tilmicosina o doxiciclina.

El tratamiento puede ser modificado según la respuesta y las pruebas de sensibilidad, una vez estén disponibles. La terapia con antibióticos es efectiva solo en la etapa

temprana de la enfermedad, cuando puede reducir la mortalidad (Desrosiers, 2004). La tasa de éxito de un tratamiento con antibióticos puede influir en la respuesta inmune de los animales. De hecho, los antibióticos altamente efectivos pueden prevenir una fuerte respuesta de anticuerpos, lo que hace que los animales sean susceptibles a una nueva infección (Sjölund *et al.*, 2009). Por otro lado, la naturaleza de las lesiones significa que el retraso en el tratamiento puede resultar en un grado de ataque cardíaco y daño crónico, que dejará al animal con una enfermedad respiratoria, incluso si se recupera.

Los antibióticos deben administrarse por vía parenteral (subcutánea o intramuscular) y en dosis altas, ya que los animales afectados suelen dejar de comer y beber (Desrosiers, 2004). Para asegurar concentraciones en sangres efectivas y duraderas, pueden requerirse inyecciones repetidas, dependiendo de las propiedades farmacocinéticas del antibiótico usado. El éxito de la terapia depende principalmente de la detección temprana de los signos clínicos y la rápida intervención terapéutica. El tratamiento vía oral a través de agua se puede usar para tratar a los miembros del grupo afectado que aún pueden beber. Asimismo, los piensos medicados con cualquiera de los antimicrobianos pueden usarse con éxito si todos los animales tienen una ingesta normal de alimentos y agua.

En los países donde todavía está permitido, se puede utilizar en alimento y la medicación en agua como terapia antimicrobiana profiláctica para prevenir los brotes agudos en rebaños altamente infectados. La medicación continua o la dosificación del pulso se pueden realizar, pero no se debe usar durante mucho tiempo, y la sensibilidad antimicrobiana del organismo se debe controlar con regularidad. Una combinación de medicación parenteral y oral en un brote agudo generalmente produce los mejores resultados. A pesar del éxito clínico aparente, debe recordarse que la terapia con antibióticos no elimina la infección en un rebaño y que el portador puede persistir durante mucho tiempo (Angen *et al.*, 2008; Desrosiers, 2004; Fittipaldi *et al.*, 2005).

En cuanto a la sensibilidad, aunque los informes esporádicos indican un grado de resistencia, los resultados recientes de un estudio global en Europa generalmente han demostrado que la aplicación rara vez es resistente *in vitro* a la amoxicilina (con o sin ácido clavulánico), ceftiofur, danofloxacin, enrofloxacin, marbofloxacin, florfenicol,

tulatromicina, tiamulina, tilmicosina, tilosina, lincomicina, sulfametoxazol/trimetoprim y espectinomicina (El Garch *et al.*, 2016). Sjölund *et al.* (2009) demostraron que los antibióticos con un CIM mínimo en sus categorías variaban significativamente en su capacidad para controlar la infección aguda. Se ha demostrado que la enrofloxacin es particularmente efectiva después del desafío experimental (Sjölund *et al.*, 2009). Se han obtenido resultados satisfactorios en campo con tiamulina (Anderson y Williams, 1990) y una combinación de lincomicina y espectinomicina (Hsu, 1990). La tilmicosina también se ha demostrado efectiva (Paradis *et al.*, 2004). Un estudio indica que, al utilizar animales infectados experimentalmente, la tulatromicina administrada como una dosis única de 2,5 o 5 mg / kg de peso corporal fue al menos tan eficaz como tres dosis diarias de ceftiofur en relación con el porcentaje de lesiones pulmonares, el aumento de la ganancia de peso diario, los días con enfermedad clínica y la temperatura rectal (Hart *et al.*, 2006).

Con respecto a las resistencias de App frente a antibióticos, tradicionalmente, el tratamiento se ha realizado con penicilinas. Sin embargo, como puede verse en la Tabla 2, esto ya no es así una vez que ha surgido la resistencia a los antibióticos betalactámicos. También ha surgido resistencia a la tetraciclina y otros antimicrobianos, pero la mayoría de los aislamientos todavía parecen ser susceptibles a las fluoroquinolonas, el ceftiofur y el florfenicol (Aarestrup *et al.*, 2008).

Tabla 3. Sensibilidad de los aislamientos de App frente a antibióticos, expresado como porcentaje de cepas sensibles.

Antibiótico	% cepas sensibles
Número de muestras	80
Ampicilina	95%
Ceftiofur	99%
Clortetraciclina	89%
Clindamicina	1%
Enrofloxacina	100%
Florfenicol	100%
Gentamicina	1%
Neomicina	3%
Oxitetraciclina	13%
Penicilina	20%
Espectinomicina	4%
Sulfadimetoxina	9%
Tiamulina	95%
Tilmicosina	90%
Sulfametoxazol/Trimetoprim	95%
Tulatromicina	90%
Tilosina	0%

Fuente: Iowa State University - VDL (Laboratorio de diagnóstico veterinario) 2015

Tabla 4. Aparición de antimicrobianos resistentes a *A. pleuropneumoniae* aislados de cerdos en varios países

Porcentaje de aislamientos resistentes.										
País	Dinamarca	Inglaterra y Gales	Francia	Corea	Holanda	Polonia	España	Suecia	Suiza	Taiwán
Año de aislamiento	2004	2004	2004	1995-1998	2003	2002	1997-2004	2005-2007	2002-2004	1985-1993
Número de aislamientos	441	43	99-130	76	190	32	229	Approx.90	83	60
Referencia	Hendriksen <i>et al.</i> (2008b)	Hendriksen <i>et al.</i> (2008)	Hendriksen <i>et al.</i> (2008)	Kim <i>et al.</i> (2001)	Hendriksen <i>et al.</i> (2008)	Hendriksen <i>et al.</i> (2008)	Gutiérrez-Martín <i>et al.</i> (2006)	SVARM (2007)	Matter <i>et al.</i> (2007)	Chang <i>et al.</i> (2002 b)
Agente antimicrobiano										
Ampicilina/amoxicilina	0	2	1	7	8	2	14	0	4	80
Fluoroquinolonas	2	0	0	0	-	1	-	0	0	20
Florfenicol	0	-	0	-	-	-	0	0	0	-
Ceftiofur	-	-	-	0	-	-	-	0	0	-
Tetraciclina	6	28	5	34	5	4	74	0	6	92
Gentamicina	-	-	-	20	-	-	9	0	64	-
Tiamulina	-	-	-	46	-	-	-	-	11	-
Sulfonamidas	-	-	-	-	-	-	17	0	40	-
Ácido Nalidíxico	-	-	-	-	-	-	3	0	-	72
Cotrimoxazol	2	28	5	0	1	8	-	-	1	92

(-) No probado

2.8 Control y Prevención

La identificación precoz de granjas infectadas subclínicamente es muy importante para el control de la enfermedad, ya que los animales portadores son una importante fuente en la transmisión horizontal.

2.8.1 Bioseguridad

La prevención y control de la transmisión de enfermedades son los pilares de la bioseguridad. En la profilaxis de enfermedades infecciosas en población de cerdos, en el contexto de la salud animal, sea prevención o control, está siempre dirigida a la población de determinada área geográfica y el requisito fundamental para su ejecución es el conocimiento de la epidemiología, en este caso, de las enfermedades transmisibles. Es necesario conocer el agente etiológico involucrado, el huésped y el medio ambiente.

En cuanto a la transmisión de las enfermedades (Neumann *et al.*, 2012), esto incluye cualquier mecanismo mediante el cual un agente infeccioso se transmite desde un huésped infectado, un vector animado o inanimado, o un reservorio ambiental a un huésped susceptible. Implícito en un evento de transmisión es el requisito de que un nuevo huésped se infecte. Esta situación contrasta con un evento de exposición en el que un agente infeccioso se presenta a un potencial huésped con transmisión como un posible resultado. La posibilidad de que ocurra la transmisión puede y debe indicarse como una probabilidad de éxito que representa la probabilidad combinada de varios eventos que ocurren en serie, cada uno con su propia probabilidad condicional de éxito. La transmisión requiere que un patógeno salga con éxito de un huésped post infectado, escape a las amenazas potenciales de su existencia en el medio ambiente, rompa los sistemas de defensa innatos de un nuevo y susceptible huésped, y luego llegue a un sitio anatómico adecuado para una mayor replicación o perpetuación en ese huésped (Zimmerman, 2003). Algunos autores han elaborado la necesidad de establecer una distinción entre los modos de transmisión y las rutas de infección (Smith, 2006). Los modos de transmisión pueden clasificarse como horizontales (entre contemporáneos o animales de la misma generación) o verticales (entre animales

infectados de una generación y animales no infectados de la generación sucesiva, en el útero o a través del calostro). Dentro de los modos horizontales de transmisión, se pueden hacer distinciones adicionales para categorizar los eventos de transmisión que ocurren como resultado del contacto directo o indirecto con un animal infectado, o a través de la exposición a un patógeno en el aire. La ruta de infección especifica los medios por los cuales un patógeno ingresa al huésped, incluidos los tractos digestivo, respiratorio o urogenital, la piel o la conjuntiva. Para obtener una apreciación completa de los determinantes de la transmisión de la enfermedad, debemos resistir la tentación de clasificar sistemáticamente los patógenos según su vía más probable, prevalente o importante de viaje entre los animales infectados y no infectados. El advenimiento de las pruebas de diagnóstico de base molecular y los análisis epidemiológicos avanzados ha permitido una comprensión más holística de las complejas interacciones entre el huésped, el patógeno y el ambiente.

En cuanto a la bioseguridad en el sistema de producción porcina se define como el conjunto de medidas para evitar la entrada y propagación de enfermedades en el rebaño. Las principales medidas son el aislamiento de la granja, a una distancia segura, de posibles focos, de vectores, y el vallado perimetral de la explotación. También forman parte de las medidas el lavado y sanitización de las instalaciones, la restricción de visitas, el vacío sanitario entre cada lote, el programa de vacunaciones, el aislamiento y el tratamiento de animales que se enferman. El uso de agua potable y tratada para la alimentación de los animales, así como para la higiene, es indispensable. El riguroso control de calidad de los ingredientes del pienso, el tratamiento correcto de los efluentes y el destino correcto de los residuos de las instalaciones y de los animales que mueren en la granja integran el conjunto de medidas para garantizar el mínimo riesgo de que entren enfermedades en una granja.

Cuando se trate de un colectivo libres de App se deben aplicar medidas de bioseguridad estrictas para evitar la introducción del agente. El mayor riesgo se presenta por la introducción de cerdos potencialmente infectados clínicamente sanos. Los animales de reemplazo deben adquirirse de rebaños sin presencia de signos clínicos, lesiones y con todas las pruebas serológicas negativas. Es muy recomendable, la práctica de cuarentena para los animales adquiridos y que durante ésta se vuelvan a

testar serológicamente antes de la introducción. Si la granja donde se introducirán los animales ya es positiva para ciertos serotipos, que se sabe que son de baja virulencia, se deben tomar precauciones similares a la introducción de serotipos que se sabe que generalmente son más virulentos. Incluso, se debe evitar la introducción de animales portadores de cepas de App de baja virulencia en un rebaño negativo (libre de App). De hecho, la mayoría de las cepas aisladas de casos clínicos y pertenecientes a serotipos de menor virulencia en Canadá (serotipos 6, 12 y 15) generalmente se aíslan en rebaños de alto estado de salud, que antes estaban libres de todos los serotipos (observaciones de campo no publicadas).

Estas prácticas deben combinarse con el flujo de animales entre las distintas fases de producción y con las prácticas de manejo, bienestar animal, capacitación de personal y con el programa de Buenas Prácticas de Producción y sistema de gestión de la calidad (EMBRAPA, 2019). Además, las medidas de bioseguridad para minimizar riesgos de contaminación de rebaños y diseminación de patógenos, básicamente, dependen del conocimiento de la supervivencia de los agentes en las condiciones ambientales, de la región donde están localizadas las granjas, de los mecanismos de diseminación de los agentes, del movimiento de cerdos entre diferentes rebaños y de cómo cada granja está conectada con los diferentes sistemas de la cadena productiva. En el caso de los animales, es crítico el aislamiento de otros cerdos y otras especies de animales domésticos y salvajes (roedores, insectos y aves), equipos, alimento, agua, granjas vecinas, sistema de desechos, vehículos, ropa, calzado, entre otros elementos que pueden portar materia orgánica de cerdos, potencial transmisor de patógenos. En la porcicultura brasileña, sólo las granjas de cerdos que producen, venden o distribuyen animales destinados a la reproducción o centrales de producción de semen, venta y/o distribución material genético, hay una normativa oficial, en la cual constan criterios específicos de bioseguridad, además de la monitorización de enfermedades específicas (IN 19 de 2002 - Granjas de Reproductores Suídos Certificados - GRSC). Para las granjas de cerdos que producen animales destinados al sacrificio, no hay ninguna norma oficial de bioseguridad a seguir. Pero, los cuidados con bioseguridad de esos rebaños dependen exclusivamente de las empresas

integradoras y de los propietarios de las granjas (EMBRAPA, 2017) que cada día se tornan como críticas en el tratamiento, prevención y control de las enfermedades.

2.8.2. Profilaxis antibiótica y vacunal

En los rebaños que ya están infectados por serotipos virulentos, los animales negativos deben vacunarse con los productos adecuados para infectar los serotipos virulentos de acuerdo con las instrucciones del proveedor y con tiempo debe permitir el desarrollo de inmunidad antes de la introducción. Durante los brotes de pleuroneumonía en las granjas infectadas por App, la máxima prioridad debe ser controlar la mortalidad mediante el tratamiento de los individuos afectados, que generalmente incluye a todos los animales que están en contacto con los cerdos afectados. El tratamiento de los animales en corrales circundantes debe evaluarse tras la extensión de la enfermedad clínica (Desrosiers, 2004); de hecho, se debe permitir que los animales desarrollen inmunidad natural (Desrosiers, 2004).

En general, la buena gestión ambiental minimiza los brotes en los rebaños infectados y esto incluye el mantenimiento de la temperatura ambiental adecuada con fluctuaciones mínimas, ventilación adecuada según la estación, uso de divisiones sólidas entre corrales, movimiento mínimo de cerdos en corrales y manejo todo dentro/ todo fuera, adecuada densidad y temperatura (variación mínima) y edad de destete menores de 21 días. Hay que tener en cuenta que, de estas medidas, el uso de separaciones sólidas choca con la legislación de bienestar en la UE.

Se ha desarrollado una amplia gama de vacunas para esta enfermedad (Ramjeet *et al.*, 2008). Estas vacunas pueden reducir básicamente los signos clínicos y las lesiones pulmonares (Del Pozo Sacristán *et al.*, 2014), pero son poco eficaces para eliminar la etapa de portador. Las vacunas comerciales se dividen en dos grupos principales: organismos muertos (bacterinas) y vacunas basadas en subunidades de toxinas. Últimamente, hay en el mercado una combinación de estos tipos de vacunas (bacterinas + toxinas) (Thevenon *et al.*, 2014). La vacunación con bacterinas es específica de serotipo (Ramjeet *et al.*, 2008); se ha sugerido una posible inmunidad cruzada con los serotipos de reacción cruzada, aunque aún debe confirmarse (Nielsen, 1985c). El uso de una bacterina se debe hacer solo en granjas donde se ha identificado

el serotipo involucrado, aunque los animales vacunados con bacterinas producirán anticuerpos que podrían reaccionar de forma cruzada con las pruebas ELISA que usan O-LPS como antígenos. Sin embargo, este no es siempre el caso: se han desarrollado pruebas de diagnóstico para detectar animales infectados utilizando antígenos altamente purificados. La vacunación con bacterinas puede inducir altos niveles de anticuerpos contra una variedad de antígenos de superficie (incluido el CPS). En algunos casos, el nivel de anticuerpos contra el LPS O en animales vacunados puede no ser lo suficientemente alto como para ser detectado en la prueba ELISA: esto no es una indicación del fracaso de la vacuna en su capacidad para inducir anticuerpos (datos inéditos).

En algunos países se usan vacunas autógenas: este enfoque puede ser útil solo cuando los serotipos involucrados en casos clínicos no están incluidos en las bacterinas comerciales disponibles. En este último caso, otra opción también puede ser el uso de vacunas basadas en toxinas que brinden protección contra todos los serotipos. Las vacunas de subunidades, compuestas de las tres exotoxinas RTX principales purificadas (ApxI, ApxII y ApxIII) con o sin una proteína de la membrana externa de App de 42 kDa, o en suspensiones mezcladas con bacterinas, se han desarrollado y se ha demostrado que brindan protección contra todos los serotipos principales. En condiciones experimentales, así como en ensayos al campo (van den Bosch y Frey 2003; Thevenon *et al.*, 2014). La protección potencial conferida por la toxina ApxIV, producida por todas las cepas in vivo, parece ser controvertida (Liu *et al.*, 2009; Wang *et al.*, 2009), y aún no se ha incorporado en ninguna vacuna comercial. Teniendo en cuenta la muy compleja patogénesis de la pleuroneumonía porcina, la inclusión de otros factores de virulencia bacteriana en las vacunas también podría ser valiosa. Se ha encontrado que una amplia gama de antígenos administrados por vía parenteral o en aerosol oral son experimentalmente protectores, pero ninguno de ellos ha sido validado en el campo (Ramjeet *et al.*, 2008).

Finalmente, las también se han desarrollado vacunas vivas que usan mutantes no virulentos obtenidos en el laboratorio y se ha demostrado que protegen contra los serotipos homólogos y heterólogos (Ramjeet *et al.*, 2008; Park *et al.*, 2009). Algunas de estas vacunas vivas utilizan incluso el concepto de diferenciación de los animales

vacunados (DIVA) (Liu *et al.*, 2009). Las vacunas pueden proporcionar altos niveles de protección contra la morbilidad en los experimentos, reducir la mortalidad, el número de tratamientos requeridos, aumentar la ganancia de peso diario, mejorar la eficiencia de conversión de alimento y la calidad de la canal, con menor decomiso por neumonía y menores costos de sacrificio por las reducciones de pleuritis y pericarditis (Del Pozo Sacristán *et al.*, 2014). La decisión de vacunar debe ser cuidadosamente evaluada; los costes de la mortalidad por sí solos no deben ser la única consideración, ya que los otros efectos en la productividad mencionados anteriormente contribuyen a los beneficios de la vacunación.

En algunos casos, los tratamientos medicamentosos individuales e intensificados de los cerdos afectados pueden ser necesarios para reducir el impacto de la enfermedad, (Sjölund y Wallgren, 2010). Generalmente se aconseja la vacunación de los lechones. Los animales no deben recibir la primera dosis durante las primeras semanas de edad para evitar la interferencia con los anticuerpos maternos. Las cerdas también pueden vacunarse sin efectos adversos (Kristensen *et al.*, 2004a), y los animales de reemplazo pueden vacunarse antes de su introducción en un rebaño infectado. La vacunación de cerdas con bacterinas específicas de serotipo puede reducir o retrasar la colonización de lechones, lo que puede conducir a una reducción, en ciertas circunstancias, de los signos clínicos en cerdos de cebo (datos inéditos). Dado que se necesitan anticuerpos contra antígenos somáticos, este efecto no sería posible con vacunas basadas exclusivamente en toxinas. Finalmente, la presencia de anticuerpos (ya sea natural o inducida por la vacuna) no eliminará el estado del portador de los animales a nivel de amígdalas (Gottschalk, 2015).

El control de la pleuroneumonía en una granja o pirámide reproductivo involucra esquemas de salud dirigidos a la cría y multiplicación de rebaños de libre de pleuroneumonía, monitorización serológica, monitorización al sacrificio y examen post mortem de las bajas, control de manejo y tránsito de cerdos a la entrada en los colectivos (pruebas serológicas, cuarentena). Para los rebaños infectados con App que pretendan unirse a un esquema de control como el descrito, un programa de erradicación previo es el método de elección, pero requiere una evaluación cuidadosa de las consecuencias económicas. Se puede usar la despoblación y la repoblación con

cerdos que se originan en granjas certificadas sin App. Sin embargo, este método es costoso y puede llevar a la pérdida de líneas genéticas importantes.

Otros métodos que han sido exitosos en el pasado incluyen el destete precoz medicado segregado fuera del sitio, al mismo tiempo apoyado por un programa de vacunación, medicación, y selección y repoblación con cerdas libres de enfermedad (Larsen *et al.*, 1990). La edad de destete y el nivel de anticuerpos maternos pueden tener una influencia importante en la colonización de App en lechones (Vigre *et al.*, 2002). Hay varias granjas que erradicaron exitosamente el App en Brasil (dependiendo del serotipo) usando un programa de destete temprano medicado (datos inéditos). Algunos serotipos, como los serotipos 12 y 8, son altamente infecciosos (incluso en ausencia de signos clínicos) y la transmisión de la infección de cerdas a lechones es relativamente temprana y rápida, lo que impide en algunos casos el éxito de la erradicación.

Pequeños rebaños de reproducción de un sitio (hasta 400 cerdas) con un porcentaje relativamente bajo de animales seropositivos (hasta un 30%) han utilizado la "prueba y eliminación" de cerdas seropositivas bajo medicación (Nielsen *et al.*, 1976). Sin embargo, el resultado exitoso de este método se basa principalmente en la prueba serológica utilizada: una prueba con baja sensibilidad no eliminará a todas las cerdas portadoras, y una prueba con baja especificidad eliminará animales sanos que no son portadores, lo que podría aumentar el coste de los programas de erradicación. El éxito de tal enfoque se considera no garantizado. Se ha sugerido una eliminación exitosa de ciertos serotipos de App con despoblación parcial y tratamiento con antibióticos (Andersen y Gram, 2004). Sin embargo, también ha demostrado que el tratamiento con antibióticos no puede eliminar el patógeno de todos los animales portadores (Angen *et al.*, 2008; Fittipaldi *et al.*, 2005). Hasta el momento, no hay pruebas sólidas de que la despoblación parcial pueda erradicar todos los serotipos de App. Antes de llevar a cabo un programa de erradicación, todos los aspectos de bioseguridad y las características de la granja deben tenerse en cuenta para control y riesgo de recontaminación (Zhuang *et al.*, 2007).

3. Objetivos

OBJETIVOS

El objetivo principal de este trabajo fue, estudiando granjas seropositivas para *A. pleuropneumoniae* frente a ApxIV, conocer la presencia de signos clínicos, así como los factores de bioseguridad para determinar en qué medida influyen en los parámetros productivos.

Para obtener el objetivo principal se establecieron los siguientes objetivos parciales:

- Identificar la presencia de signos clínicos relacionados con *A. pleuropneumoniae* en las granjas seleccionadas
- Determinar los parámetros reproductivos y productivos en transición y cebo en las granjas estudiadas.
- Conocer los principales serotipos de la bacteria presente en las granjas seleccionadas mediante aislamiento y métodos moleculares.
- Conocer las resistencias a antibióticos presentes en las cepas de *A. pleuropneumoniae* presentes en las granjas seleccionadas.
- Establecer relaciones entre los distintos factores, con la presencia de signos, de serotipos y de resistencias a los antibióticos.
- Evaluar mediante un sistema objetivo la bioseguridad interna y externa en las granjas estudiadas.

3. Material y métodos

3. MATERIAL Y METODOS

3.1 Granjas y animales

Las granjas incluidas en este estudio se eligieron en base a los resultados serológicos frente a ApxIV, siendo todas ellas positivas. Se determinó entre 2015–2019, en cuales de ellas aparecían brotes de pleuroneumonía. Las granjas se identificaron por letras para facilitar los estudios estadísticos y posibles evaluaciones y se clasificaron como presencia y ausencia de signos clínicos. Fueron seleccionadas veinte en diferentes estados de Brasil (Figura 1):

- Minas Gerais con 4 (Granjas 1, 2, 3, 4)
- Mato Grosso con 3 (Granja 5, 6, 7)
- Sao Paulo con 5 (Granja 8, 9, 10, 11, 12)
- Paraná con 7 (Granja 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19)
- Santa Catarina con 1 (Granja 20)

Las granjas están localizadas en regiones que son consideradas áreas importantes en cuanto a la producción porcina intensiva. Son granjas con diferentes y se seleccionaron porque tenían un histórico de menos de 5% de mortalidad en las fases de destete/finalización y un índice de 0,5-7 % de animales con pleuritis al sacrificio.

La orientación y el sistema productivo de cada granja aparecen en la siguiente tabla:

Tabla 5. Resumen de las granjas incluidas en el estudio

Granja número	Código	Estado	Cerdas	Genética	Orientación	Sistema producción
1	P	Minas Gerais	300	<i>TOPIGS NORSVIN</i>	Multiplicador cerrado	Ciclo Completo
2	L	Minas Gerais	3000	<i>TOPIGS NORSVIN</i>	Productor cerdo de cebo	Múltiples fases
3	M	Minas Gerais	1600	<i>PIC</i>	Productor cerdo de cebo	Múltiples fases
4	Q	Minas Gerais	1200	<i>DANBRED</i>	Productor cerdos de cebo	Ciclo Completo
5	D	Mato Grosso	1650	<i>TOPIGS NORSVIN</i>	Productor cerdos de cebo	Ciclo Completo
6	E	Mato Grosso	900	<i>TOPIGS NORSVIN</i>	Productor cerdo de cebo	Ciclo Completo
7	F	Mato Grosso	900	<i>DANBRED</i>	Productor cerdo de cebo	Ciclo Completo
8	I	São Paulo	1200	<i>TOPIGS NORSVIN</i>	Multiplicador cerrado	Múltiples fases
9	O	São Paulo	2000	<i>TOPIGS NORSVIN</i>	Productor cerdo de cebo	Múltiples fases
10	G	São Paulo	5200	<i>TOPIGS NORSVIN</i>	Productor cerdo de cebo	Múltiples fases
11	H	São Paulo	650	<i>TOPIGS NORSVIN</i>	Multiplicador abierto	Ciclo Completo
12	S	São Paulo	450	<i>TOPIGS NORSVIN</i>	Productor cerdo de cebo	Múltiples fases
13	C	Paraná	350	<i>TOPIGS NORSVIN</i>	Multiplicador abierto	Ciclo Completo
14	B	Paraná	300	<i>TOPIGS NORSVIN</i>	Multiplicador abierto	Ciclo Completo
15	A	Paraná	780	<i>TOPIGS NORSVIN</i>	Multiplicador cerrado	Múltiples fases
16	J	Paraná	5200	<i>TOPIGS NORSVIN</i>	Productor cerdo de cebo	Múltiples fases
17	T	Paraná	5200	<i>TOPIGS NORSVIN</i>	Productor cerdo de cebo	Múltiples fases
18	N	Paraná	2800	<i>PIC</i>	Productor cerdo de cebo	Múltiples
19	K	Paraná	3400	<i>PIC</i>	Productor Cerdo de cebo	Múltiples fases
20	U	Santa Catarina	3800	<i>TOPIGS NORSVIN</i>	Multiplicador abierto	Ciclo Completo
		MGe= 4 MGo= 3 SC = 1 P = 7 SP = 5	40880	TN = 15 PIC = 3 DAN = 2	MULT = 7 CEBO = 13	CC = 09 ML = 11

Granjas en Minas Gerais:

Granja 1 (P): Granja con 300 cerdas, de genética **TOPIGS NORSVIN**, abuelas y bisabuelas y recibía semen de un Centro de Inseminación Artificial (CIA) externo, pero de la misma genética para mejoramiento. Recibía animales de reemplazo para mejoramiento genético en instalaciones de cuarentena separado y aislado de la granja. Su sistema de producción era de ciclo completo. La granja es App era positiva por serología, pero con ausencia de signos clínicos de pleuroneumonía porcina. El objetivo de la granja es producir F1 para Granja 2 que es de 3.000 cerdas.

Granja 2 (L): 3.000 cerdas, con genética **TOPIGS NORSVIN**, el colectivo reproductor estaba formado por cerdas F1 de reemplazo procedentes de la granja P, introducidas directamente en la granja. No había cuarentena para recibir las hembras de reemplazo. Se inseminaba las hembras con semen de un CIA externo de genética Pig Improvement Company (**PIC**). Es sistema de producción era en múltiples sitios. Con un Sitio I con la reposición, gestación y maternidad y un Sitio II con el destete y otros de cebo (múltiples). El objetivo de producción eran los cerdos de cebo. La granja era App positiva por serología con presencia de signos clínicos y con diagnóstico de aislamiento bacteriano del agente.

Granja 3 (M): 1.600 cerdas, con genética **PIC**, plantel formado con Abuelas y F1 que produce su propio reemplazo. Recibe animales para mejoramiento genético en instalaciones de cuarentena separado y aislado da granja. Insemina las hembras con semen de un Centro de inseminación artificial (CIA) de genética **PIC**. Lo sistema de producción es en dos sitios, siendo Sitio I (recría, maternidad y gestación) y Sitio II (destete y finalización). Produce hembras F1 para su propio reemplazo y cerdos de engorde. La granja es App positiva por serología con presencia de signos clínicos y diagnóstico de aislamiento del agente bacteriano.

Granja 4 (Q): Son 1.200 cerdas, con genética **DANBRED**, plantel formado con Abuelas y F1 que produce su propio reemplazo. No ha cuarentenario y recibe los animales de mejoramiento genético directamente en la granja. Insemina las hembras con semen de su propio Centro de inseminación artificial (CIA). Lo sistema de producción es ciclo completo. Produce hembras F1 para su propio reemplazo y cerdos de engorde. La

granja es positiva a App por serología con presencia de signos clínicos y tiene diagnóstico de aislamiento del agente bacteriano.

Granjas en Mato Grosso:

Granja 5 (D): Son 1.650 cerdas, genética **TOPIGS NORSVIN**, plantel formado con Bisabuelas, Abuelas y F1 que produce su propio reemplazo. Recibe animales para mejoramiento genético en instalaciones de cuarentena separado y aislado da granja. Insemina las hembras con semen de su propio Centro de inseminación artificial (CIA). Lo sistema de producción es ciclo completo. Producen su propio reemplazo de hembras abuelas y F1 también cerdos de cebo. La granja es positiva a App por serología, pero con ausencia de signos clínicos.

Granja 6 (E): Son 900 cerdas, genética **TOPIGS NORSVIN**, plantel formado con Bisabuelas, Abuelas y F1 que produce su propio reemplazo. Recibe animales para mejoramiento genético en instalaciones de cuarentena separado y aislado da granja. Insemina las hembras con semen de su propio Centro de inseminación artificial (CIA). Lo sistema de producción es ciclo completo. Producen reemplazo de abuelas y F1 y cerdos de cebo. La granja es positiva a App por serología con presencia de signos clínicos y aislamiento del agente bacteriano.

Granja 7 (F): Son 900 cerdas, genética **DANBRED**, plantel formado con F1 que recibe su reemplazo de granjas externas directamente en la granja. No tiene instalaciones de cuarentena. Insemina las hembras con semen de su propio CIA. El sistema de producción es ciclo completo. Producen cerdos de engorde. La granja es positiva a App por serología con presencia de signos clínico y aislamiento del agente bacteriano.

Granjas en São Paulo:

Granja 8 (I): Son 1.200 cerdas, genética **TOPIGS NORSVIN**, plantel formado con Bisabuelas, Abuelas (multiplicador cerrado) que produce su propio reemplazo y F1 para otras granjas del propio grupo. Recibe animales para mejoramiento genético en instalaciones de cuarentena separado y aislado da granja. Insemina las hembras con

semen de un CIA de la empresa de genética. Lo sistema de producción es dos sitios, siendo Sitio I (maternidad, gestación, reemplazo y destete) y en otro Sitio, pero en la misma propiedad a una distancia de 2 km existe una Unidad de Preparación de Primerizas (GDU) con crecimiento, pubertad y gestación. Recibe hembras de 20 -30 kg y sieguen hasta cinco – seis semanas de cubrición. El engorde y finalización de los animales (machos y hembras no seleccionadas) se hace en otras propiedades en distintas localidades. La granja es positiva a App por serología, pero con ausencia de signos clínicos.

Granja 9 (O): Son 2.000 cerdas, genética **TOPIGS NORSVIN**, plantel formado con Bisabuelas, Abuelas y F1 que produce su propio reemplazo. Recibe animales para mejoramiento genético directamente en la granja. No tiene cuarentena. Insemina las hembras con semen de la empresa de genética (abuelas y bisabuela) y las F1 insemina con semen de su propio CIA. Lo sistema de producción es tres sitios. Siendo Sitio I (maternidad, gestación y reemplazo), Sitio II (destete) y Sitio III (finalización) en diferentes propiedades. La granja es positiva a App por serología, pero con ausencia de signos clínicos.

Granja 10 (G): Son 5.200 cerdas, genética **TOPIGS NORSVIN**, plantel formado con F1 que recibe su reemplazo de F1 de origen de la granja 8 (I). Recibe hembras cubiertas de la GDU. Insemina las hembras con semen de su propio CIA. Lo sistema de producción es múltiples sitios. Siendo Sitio I (maternidad, gestación), Sitio II (destete) en otra localidad y Sitio III (finalización) en dos distintas propiedades. Lo objetivo de la granja es producción de cerdos de cebo. La granja es positiva a App por serología, pero con presencia de signos clínicos y aislamiento de agente bacteriano (App).

Granja 11 (H): Son 650 cerdas, genética **TOPIGS NORSVIN**, plantel formado con Bisabuelas, Abuelas y produce F1 para venta. Produce su propio reemplazo. Recibe pocos animales para mejoramiento genético, pero cuando recibe es en cuarentena separado de la granja. Lo mejoramiento genético en gran mayoría se hace vía semen. Insemina las hembras con semen de un centro de inseminación artificial de la misma genética. Lo sistema de producción es ciclo completo. El objetivo de la granja es multiplicación abierta. La granja es positiva a App por serología, pero con presencia de signos clínicos.

Granja 12 (S): Son 450 cerdas, genética **TOPIGS NORSVIN**, plantel formado con Abuelas y F1. Produce su propio reemplazo. No tiene cuarentena. Recibe material genético directamente en la granja. Insemina con semen de su propio CIA. Lo sistema de producción es dos Sitios. Siendo Sitio I (maternidad, gestación y reemplazo) y Sitio II (destete y finalización). El objetivo de la granja es producción de animales de engorde y su propio reemplazo. La granja es positiva a App por serología, pero con presencia de signos clínicos y aislamiento de agente bacteriano.

Granjas en Paraná:

Granja 13 (C): Son 350 cerdas, genética **TOPIGS NORSVIN**, plantel formado con Bisabuelas, Abuelas y produce su propio reemplazo. Recibe animales para mejoramiento genético en cuarentena aislado en otra propiedad. Lo mejoramiento genético en gran mayoría se hace vía semen. Insemina las hembras con semen de un centro de inseminación artificial de la misma genética localizado en otra propiedad. Lo sistema de producción es ciclo completo. El objetivo de la granja es multiplicación abierta de abuelas. La granja es positiva a App por serología, pero con ausencia de signos clínicos.

Granja 14 (B): Son 300 cerdas, genética **TOPIGS NORSVIN**, plantel formado con Bisabuelas, Abuelas y produce su propio reemplazo. Recibe animales para mejoramiento genético en cuarentena aislado en otra propiedad. Lo mejoramiento genético en gran mayoría se hace vía semen. Insemina las hembras con semen de un centro de inseminación artificial de la misma genética, también localizado en otra propiedad. Lo sistema de producción es ciclo completo. El objetivo de la granja es multiplicación abierta de abuelas y machos reproductores. La granja es positiva a App por serología, pero con ausencia de signos clínicos.

Granja 15 (A): Son 780 cerdas, con genética **TOPIGS NORSVIN**, abuelas y bisabuelas. No tiene cuarentena, pero no más recibe hembra en la granja, apenas semen para mejoramiento genético. Recibe semen de Centro de Inseminación externo de la genética, pero de la misma genética. Su sistema de producción es de ciclo cerrado y completo. Es una granja de multiplicación cerrada con objetivo de producir su propio

reemplazo y F1 para dos granjas de Granja 16 y 17 en total de 10.400 cerdas. La granja es positiva a App por serología, pero con ausencia de signos clínicos de pleuroneumonía porcina.

Granja 16 (J): Son 5.200 cerdas, genética **TOPIGS NORSVIN**, plantel formado de F1 que recibe su reemplazo al destete de origen de la granja 15 (A) directamente en la granja. No ha cuarentena. Insemina las hembras con semen de su propio CIA pero en otra propiedad. Lo sistema de producción es sitios múltiples. Siendo Sitio I y II (maternidad, destete, gestación y reemplazo) en un mismo sitio y Sitio III (finalización) en distintas propiedades (múltiples sitios). Objetivo de granja producir lechones de 20 – 25 kg de PV para otras propiedades de cerdos de engorde (múltiples sitios). La granja es positiva a App por serología, pero sin presencia de signos clínicos.

Granja 17 (T): Son 5.200 cerdas, genética **TOPIGS NORSVIN**, plantel formado de F1 que recibe su reemplazo al destete de origen de la granja 15 (A) directamente en la granja. No ha cuarentena. Insemina las hembras con semen de su propio CIA pero en otra propiedad. Lo sistema de producción es sitios múltiples. Siendo Sitio I y II (maternidad, destete, gestación y reemplazo) en un mismo sitio y Sitio III (finalización) en distintas propiedades. Objetivo de la granja es producir lechones de 20 – 25 kg para distintas finalizaciones de cerdos de engorde (múltiples sitios). La granja es positiva a App por serología, pero sin presencia de signos clínicos.

Granja 18 (N): Son 2.800 cerdas, genética **PIC**, plantel formado de F1 que recibe su reemplazo directamente en la granja a los 90 kg de PV. Pero de mismo origen. No ha cuarentena. Insemina las hembras con semen de su propio CIA en otra propiedad. Lo sistema de producción es dos sitios. Siendo Sitio I (maternidad, gestación y reemplazo) en la misma propiedad y Sitios II (destete) y Sitio III (finalización) en distintas propiedades (múltiples sitios). Objetivo de la granja es producir lechones destetados de 6 – 7 kg para distintos destetes y cerdos de cebo. La granja es App positiva por serología, pero sin presencia de signos clínicos.

Granja 19 (K): Son 3.400 cerdas, genética **PIC**, plantel formado de Abuela, Bisabuela y F1. Recibe su reemplazo en cuarentena en otra propiedad. Insemina las hembras con semen de un CIA externo en otra propiedad. Lo sistema de producción es tres sitios.

Siendo Sitio I (maternidad y gestación), Sitio II y III (destete y finalización) en distintas propiedades. La reposición es en una GDU separada que produce las primerizas y entran en la granja al 110 día de gestación. El objetivo de la granja es producir su propio reemplazo y cerdos de cebo. La granja es App positiva por serología, pero sin presencia de signos clínicos.

Granjas en Santa Catarina:

Granja 20 (U): Son 3.800 cerdas, genética **TOPIGS NORSVIN**, plantel formado de Abuela, Bisabuela y F1. Es una granja multiplicadora abierta que produce su propio reemplazo, abuelas, machos reproductores y F1. Recibe su reemplazo en cuarentena en otra propiedad. Insemina las hembras con semen de un CIA externo de la misma genética, pero en otra propiedad. Lo sistema de producción es ciclo completo. La granja es App positiva por serología, pero sin presencia de signos clínicos.



Figura 1. Estados en los que se han evaluado granjas.

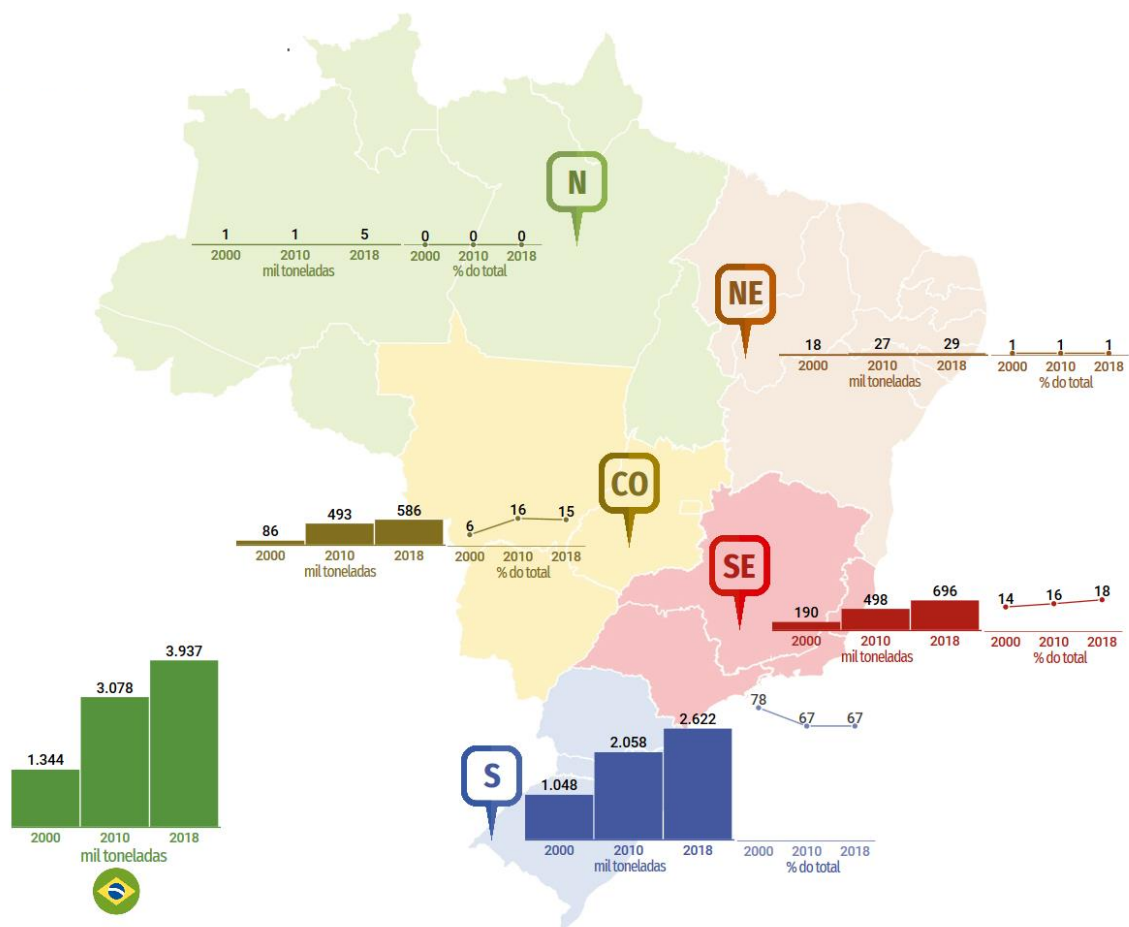


Figura 2. Distribución del sacrificio de cerdos en Brasil (EMPRAPA, 2018)

La zona geográfica de distribución de las granjas abarca prácticamente todas las zonas donde se sacrifican cerdos en Brasil, como evidencia la Figura 2.

3.1 Datos productivos y al sacrificio

De las granjas incluidas en el estudio se obtuvieron los siguientes datos medios anuales (periodo 2017-2019 hasta agosto):

a. Parámetros reproductivos

- Porcentaje de fertilidad: Porcentaje de cerdas gestantes sobre total de cubriciones
- % de cerdas que salen a celo en un periodo de 7 días tras el destete
- Lechones nacidos totales por camada
- Lechones nacidos vivos por camada
- Lechones destetados por camada
- Mortalidad en reproductoras (%)
- Censo medio anual
- Total destetados
- Destetados por cerda y año
- Peso al destete (Kg)
- Edad al destete (días)

b. Parámetros en transición

Se registraron los siguientes parámetros:

- Mortalidad en destete (%)
- Ganancia media diaria (g/día)
- Índice de transformación (Kg/Kg)
- Edad de transferencia a cebo (días)
- Peso a la transferencia a cebo (Kg)

c. Parámetros de cebo

Se registraron los siguientes parámetros:

- Edad de sacrificio (días)
- Mortalidad en cebo (%)

- Ganancia media diaria (g/día)
- Índice de transformación ajustada en 100% (Kg/Kg)
- Duración media del cebo (días)
- Peso al sacrificio (Kg)
- Coste en medicación por cerdo. La información estaba recopilada en dólares (por ser más estable que el Real Brasileiro), por lo que para transformar a euros se aplicó el cambio medio de todas las cotizaciones diarias del año 2019 (1,126 dólares por euro).

Se calculó la diferencia de coste para las granjas con y sin síntomas, usando los parámetros calculados para cada grupo tomados en total y segregados por genética. Se fijaron ciertos parámetros no conocidos y los costes laborales, financiero y de alimentación se tomaron de los datos publicados por AHDB para Santa Catarina en el año 2017.

3.2. Diagnóstico

3.2.1. Determinación de presencia de sintomatología clínica relacionada con pleuroneumonía

Se consideraron síntomas compatibles con pleuroneumonía la presencia de animales que enfermaran súbitamente, con fiebre alta (40,5-41,5°C), apatía, anorexia y marcada dificultad respiratoria y/o tos. También se consideraron la presencia de cianosis en orejas y cara o extremidades, el enrojecimiento de la piel, animales en postura de perro sentado y la presencia de sangre o espuma sanguinolenta en la geta (Gottschalk y Broes, 2019). Hay que tener en cuenta dos factores: 1) la pleuroneumonía puede tener tres cursos clínicos (hiperagudo, agudo y crónico), con cuadro clínicos distintos y los tres se pueden dar simultáneamente en un rebaño dificultando el diagnóstico clínico inequívoco y 2) hay otros patógenos respiratorios que pueden causar un cuadro clínico similar y en ocasiones indistinguible del producido por *A. pleuropneumoniae*. Por tanto, la identificación de síntomas fue tan solo un diagnóstico presuntivo.

Los análisis microbiológicos del aislamiento se realizaron en el Centro de Investigación y Patología Animal – CEPPA, ubicado en la Ciudad de Paulínia, Estado de São Paulo

(Brasil). Los aislados de *A. pleuropneumoniae* se realizaron a partir de muestras procedentes de granjas con y sin signos clínicos.

Los materiales procesados relativos a las granjas involucradas en el estudio fueron recibidos entre el año 2016 y el año 2018, provenientes de las unidades productoras anteriormente descritas y procedentes de animales con síntomas clínicos o histórico clínico de pleuroneumonía.

3.2.2. Identificación

Los análisis microbiológicos del aislamiento se realizaron en el Centro de Investigación y Patología Animal – CEPPA, ubicado en la Ciudad de Paulínia, Estado de São Paulo (Brasil). Los aislados de *A. pleuropneumoniae* se realizaron a partir de muestras procedentes de granjas con y sin signos clínicos.

Los materiales procesados relativos a las granjas involucradas en el estudio fueron recibidos entre el año 2016 y el año 2018, provenientes de las unidades productoras anteriormente descritas y procedentes de animales con síntomas clínicos o histórico clínico de pleuroneumonía.

Las muestras recibidas para detectar el agente por aislamiento bacteriano se procesaron de acuerdo con el envío de estas, a partir de: tejido pulmonar, hisopo de pleura y líquido torácico (cuando se encontró). El material, enviado en refrigeración a una temperatura de 2-8°C, era procesado después de un período de aproximadamente cuatro horas después de la necropsia; en algunos casos, hasta 48 horas después. Además del material procedente de las unidades productoras, se recibieron también fragmentos pulmonares, recogidos en matadero durante las monitorizaciones realizados durante el sacrificio de animales de las granjas en cuestión, en los que se encontraban lesiones macroscópicas compatibles con el agente, como presencia de lesiones en la pleura o nódulos localizados en el tejido pulmonar.

Después de analizar la muestra e identificada la presencia de nódulos en el tejido, se procedía a asegurar la asepsia de la superficie de esta con una lámina metálica calentada y posteriormente con ayuda de una hoja de bisturí estéril se realizaba un corte en el centro del nódulo, exponiendo el tejido lesionado.



Figura 3. Toma de muestras en pulmón sospechoso.

Con ayuda de un escobillón estéril se realizaba la recolección del material en los bordes del nódulo, entre el tejido lesionado y el tejido sano, para obtención del material para siembra. Inmediatamente después de la recolección del material, el hisopo se sembraba en placa horizontalmente, utilizando como medio Agar Sangre suplementado con un 5% de sangre ovina y, perpendicular a este frotis, se aplicaba una estría con la cepa de *S. aureus* ATCC. Este material se incubó a 37°C durante 24 a 48 horas, en un ambiente con un 5% de CO₂.

Después del período de incubación, a las 24 horas ya se observaban colonias puntiformes, hemolíticas, dependientes de NAD y organizadas por la presentación en satelitismo junto a la estría de *S. aureus* (crecimiento sólo cerca de dicha estría). Las colonias que fueron consideradas sospechosas, se resembraron en Agar Sangre y Agar Chocolate, fueron sometidas a la tinción de Gram y a pruebas bioquímicas para identificación y caracterización de *A. pleuropneumoniae* (Quinn *et al.*, 2011), usando el criterio que aparecen en la Tabla 2 (página 25).

La verificación de la sensibilidad de la cepa frente a los antimicrobianos se realizó mediante la técnica descrita en el CLSI (Instituto de Normas y Normas de laboratorio) por la metodología Disco Difusión. El método de Kirby-Bauer fue utilizado para la prueba de sensibilidad a los antimicrobianos de las 23 cepas de *A. pleuropneumoniae* aisladas durante el período. El diámetro de las zonas de inhibición fue medido para cada agente antimicrobiano utilizando un halo de medición y las cepas fueron registradas como susceptibles, resistentes o intermedias. Después de confirmar el agente bacteriano por la caracterización de las pruebas bioquímicas, se

aplicó la prueba de sensibilidad del *A. pleuropneumoniae* (disco de difusión en Agar Muller Hinton (Difco[®], Becton Dickinson, Reino Unido) Chocolate de la cepa incubada, por un período de 24 horas para la obtención del inóculo). Los discos de antibióticos y la solución salina, junto con la placa de 150 x 90 mm que contenía Agar Muller Hinton (Difco[®], Becton Dickinson, Reino Unido), se mantuvieron durante dos horas a la temperatura ambiente antes de realizar la prueba. Con la ayuda de un asa de inoculación estéril fueron seleccionadas de cuatro a cinco colonias para obtener el inóculo en la turbidez de 0,5 – en la escala de Mac Farland. Después del procedimiento con ayuda de un hisopo se realizó la inmersión de estas en el tubo conteniendo el inóculo, para proceder a la siembra de forma uniforme en toda extensión del Agar en el sentido horizontal, vertical y diagonal. Posteriormente, después de diez minutos a la temperatura ambiente, con una pinza se distribuyeron nueve discos impregnados con moléculas de agentes antimicrobianos para evaluación de la sensibilidad. Se utilizaron los siguientes antimicrobianos: amoxicilina (30 mcg), ceftiofour (30 mcg), doxiciclina (30 mcg), enrofloxacina (5 mcg), florfenicol (30 mcg), gamitromicina (15 mcg), lincomicina + espectinomicina (109 mcg) + (5 mcg), oxitetraciclina (30 mcg), penicilina (10 UN), tetraciclina (30 mcg), tilmicosina (15 mcg) y tulatromicina (30 mcg). Después de colocados los discos en la placa, la misma se dejó invertida unos minutos, procediendo a su incubación en estufa con 5% CO₂ por un período de 18 a 24 horas. Después del período de incubación, la zona de inhibición para cada antibiótico se leyó con ayuda de una regla calibrada para obtener el halo de inhibición, para determinar si la cepa era sensible, resistente o intermediaria.

En la granja G se decidió hacer un seguimiento longitudinal de los aislamientos para comprobar si la presencia de la cepa predominante era estable o no, y sobre todo, si las resistencias frente a los antimicrobianos cambiaban a lo largo del periodo 2017-2019. Se decidió hacerlo en esta granja porque la empresa cuenta con matadero propio lo que facilitaba notablemente la observación de lesiones compatibles con App al sacrificio y la obtención de muestras para los aislamientos y tipados subsecuentes.

3.2.3. Métodos moleculares. PCR

Además de los tejidos pulmonares de los animales con signos clínicos, recogidos de las granjas analizadas, en las unidades de producción que presentaban positividad para el agente de la pleuroneumonía, pero no presentaban signos clínicos, se aplicó la técnica del PCR, utilizando hisopos (cepillo cervical) para recoger material de las amígdalas para la identificación de los serotipos implicados.

La recolección se realizó en animales en cebo, por encima de los 90 días de edad, utilizando para el procedimiento un abrebocas de tamaño adecuado. Una vez inmovilizado el animal y con el abrebocas colocado, se abrió el hisopo y se frotó vigorosamente contra la tonsila derecha y a continuación la izquierda, para tomar células y anexos del tejido. Después de la recolección de la superficie de las amígdalas el hisopo se colocó en un tubo plástico estéril, debidamente identificado y mantenido refrigerado hasta acabar el procedimiento con todos los animales. Estos tubos posteriormente se congelaron para su envío al laboratorio. Las muestras tardaron en llegar entre cuatro a 56 horas después de la recolección del material.



Figura 4. Escobillón de toma de muestras

3.2.3.1. Protocolo de aislamiento de ADN

La técnica de PCR (consiste básicamente en la amplificación *in vitro* de una región específica del ADN, con el fin de aumentar el número de copias de este, a fin de producir material suficiente para los diversos análisis. Es decir, el método se utiliza para hacer muchas copias de una determinada parte del ADN.

El protocolo para extracción de las muestras recogidas de las amígdalas mediante el cepillo cervical, fue realizado utilizando el kit comercial de la empresa NewGene® (Reino Unido). El primer procedimiento, denominado *NewGene Prep*, contempla el uso de un reactivo utilizado para diagnóstico *in vitro*. Consiste en la preparación de una solución tampón para la solubilización de los ácidos nucleicos y su posterior purificación, con el reactivo *NewGene Preamp*.

Después de la recepción de la muestra y la identificación del cepillo cervical, la misma se transfiere a un microtubo de 2 mL, estéril, siendo las cerdas cortadas en la base con el auxilio de una tijera estéril. La muestra recibe una solución tampón para la solubilización de los ácidos nucleicos, para su posterior purificación. Un reactivo universal se utiliza para la purificación del ADN y del ARN a partir de muestras previamente solubilizadas, que consiste en la adsorción de ácidos nucleicos en partículas de sílice en condiciones de alta fuerza iónica con lavados subsecuentes para la retirada de impurezas y elución del ADN / RNA, mediante condiciones ajustadas de pH y fuerza iónica. El producto final de la purificación es eluido en solución Tris 10 mM y EDTA 1 mM, para posterior amplificación del material extraído.

3.2.3.2. Caracterización genotípica por serogrupos

Para la realización de la amplificación y caracterización genotípica, se utilizó el kit comercial de diagnóstico NewGene APPAmp®, que utiliza cebadores específicos – *primers*– y una sonda marcada con colorantes fluorescentes, que se unen exclusivamente al ADN objetivo. La reacción es desencadenada por la unión de los *primers* y de la sonda al ADN objetivo y su posterior amplificación por la enzima *Taq polimerasa*. El kit en cuestión presenta controles positivos y negativos.

El termociclador utilizado para la lectura de los resultados fue el Step one Plus™ de Applied Biosystems® (EE.UU.), asociado al software v 2.3 para el análisis de los datos. El resultado de la reacción se basa en la detección en tiempo real de la señal emitida por la sonda fluorescente en el momento de la polimerización, que es proporcional a la acumulación de productos durante el proceso del PCR. La PCR se ha alineado (*Nested* PCR) para *A. pleuropneumoniae*, utilizando el gen *oml A* (*outer membrane lipoprotein*), las primers externas ACP-1F y ACP-2R (458 bp) y los primers internos ACP-3F y ACP-4R (444 bp). El programa térmico definido para el ensayo consiste en un ciclo para activación enzimática a 95° C durante 5 minutos, seguido de 42 ciclos (desnaturalización a 95° C durante 15 segundos) y 1 minuto de hibridación a 60° C. Se consideraron positivas las muestras que presentaron valor de Cq ≤ 40. El control positivo debe resultar positivo, con un valor de Cq variando entre los valores establecidos en la referencia del control de calidad de cada kit. Ninguna amplificación debe ser observada para el control negativo. Las muestras positivas en esta etapa fueron identificadas, se extrajo ADN, fueron congeladas y enviadas al Laboratorio Simbios, ubicado en la ciudad de Cachoeirinha (Rio Grande do Sul, Brasil). Las muestras positivas amplificadas con el gen *oml A* (*Nested* PCR), posteriormente fueron procesadas por *Nested* PCR / RFLP, a partir de lo que fue posible clasificar los serotipos en cuatro grupos moleculares, como se describe a continuación:

Tabla 6. Agrupamiento de serotipos en las pruebas moleculares

Grupos moleculares	Serotipos
1	1, 9, 11, 12
2	2 y 8
3	3, 4, 6, 7
4	5, 10

En este estudio se incluyeron muestras de granjas similares a las seleccionadas pero que no estaban en el estudio, puesto que se buscó maximizar la identificación de serotipos que pudieran estar implicados de forma zonal, y con la intención de aumentar las muestras analizadas.

3.2.3.3. Caracterización genotípica por serotipos

Las muestras bacterianas aisladas se cultivaron con un tiempo de incubación de 48 horas y luego, se seleccionaron 3 colonias con la ayuda de un mango de inoculación, se suspendieron en 1 microlitro de medio y se almacenaron en un microtubo para extraerlas. La extracción de ADN se realizó como se ha descrito anteriormente, inmediatamente después de la selección de las colonias.

Se sometieron a caracterización y amplificación genotípica, para lo que se utilizó el kit de diagnóstico comercial Exopol EXOone App Basic Kit (Exopol, España), para confirmar la presencia de *A. pleuropneumoniae* y una vez realizada esta confirmación, se utilizó el Exopol EXOone Basic Commercial Kit (Exopol, España) para los serotipos 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 y 11, 10, 12, 14, 15 y 16, siguiendo las recomendaciones del fabricante.

El termociclador utilizado para leer los resultados fue Applied Biosystems® Step one Plus™ (Life Technologies, EE.UU.), asociado con el software, v 2.3 para el análisis de datos. El resultado de la reacción se basa en la detección en tiempo real de la señal emitida por una sonda fluorescente en el momento de la polimerización, que es proporcional a la acumulación de productos durante el proceso de PCR. El programa térmico definido para el ensayo consistió en un ciclo para la activación enzimática a 95°C durante 5 minutos, seguido de 42 ciclos de desnaturalización a 95°C durante 15 segundos, e hibridación de 1 minuto a 60°C. La lectura de fluorescencia se realizó durante el periodo de hibridación de cada ciclo. Las muestras se consideraron positivas para un valor de $Cq \leq 40$.

Cada termociclado incluyó un control positivo, considerándose una reacción válida cuanto este arrojó un valor de Cq dentro del valor establecido para cada kit; que puede variar entre kits. No se debe observar amplificación para el control negativo.

3.3 Protocolo de bioseguridad

3.3.1 Evaluación de la Bioseguridad: sistema “Semáforo”

Se ha realizado una evaluación del protocolo de bioseguridad implementado por cada una de las granjas estudiadas, utilizando un sistema de encuestas preelaboradas y basadas en el Sistema de Evaluación de bioseguridad *Semáforo* ideado por TOPIGSNORSIN (Ver Anexo I) que fue aplicado dos veces en cada granja. La denominación del sistema se basa en que se clasifica a las granjas por colores rojo, naranja y verde, dependiendo de la bondad de la bioseguridad aplicada.

Existen diversos métodos de evaluación de la bioseguridad, casi todos basados en encuestas epidemiológicas, de manejo e higiene. La empresa de genética de cerdos, TOPIGSNORSVIN, presente en distintos países, elaboró una encuesta de puntuación abordando aspectos relevantes de la bioseguridad externa e interna con nombre de semáforo de la bioseguridad para las granjas núcleos internacionales con objetivo de estandarizar el análisis de riesgo en sus granjas. En principio, fueron las granjas núcleos, siguiendo para las multiplicadoras y después en sistemas de producción comercial de sus clientes que producen cerdos al sacrificio con el objetivo de introducir los mismos conceptos al todo sistema de producción. Esta evaluación de la bioseguridad ha servido como soporte para otras empresas, técnicos y productores que tienen interés en mejorar la calidad sanitaria de sus granjas e implementar las medidas de bioseguridad.

El instrumento utilizado para la recolección de datos fue el cuestionario (anexo), que consiste en un conjunto de cuestiones preelaboradas, sistemática y secuencialmente dispuestas en ítems que constituyen el tema de la investigación, con el objetivo de suscitar las informaciones con respuestas por escrito sobre el asunto y que los informantes sepan opinar o informar.

La presente propuesta metodológica tiene como objetivo extraer de los ambientes externo e interno de granjas productoras de cerdos informaciones que contribuyan en la evaluación de la bioseguridad de la producción de los animales, a través de un análisis comparativo con la puntuación máxima que puede obtenerse. El cuestionario se ha denominado "***Semáforo de Bioseguridad***".

En esta encuesta al final se obtiene una hoja de cálculo en formato Excel, en la que se evalúan varios parámetros de la bioseguridad, como de la parte externa e interna de la propiedad, del manejo de los empleados y animales, entre otros. Con la evaluación y resultado numérico generado, es posible observar cuáles son los puntos que se pueden mejorar y cuáles afectan en los resultados de producción en las diferentes etapas de producción.

Cada tema evaluado tiene su puntuación definida, y el valor máximo que se puede obtener es un total de 708 puntos. La puntuación total que la granja recibe se mide en un Semáforo que es clasificado por colores. Así, una granja que obtenga el 70% de la puntuación total posible será clasificada con el color rojo, que significa situación de alerta. El color amarillo indica una situación que puede mejorar y el verde una situación adecuada que debe ser preservada.

En este sistema de evaluación, la puntuación de la bioseguridad externa debe ser multiplicado por tres, debido a la importancia del control externo en la bioseguridad y que se refiere al control de entrada de enfermedades. En este apartado, se evalúan 11 grandes bloques:

1. Área externa
2. Introducción de animales nuevos y cuarentena
3. visitantes
4. Alimentación de los animales
5. Abastecimiento de agua
6. Tratamiento y eliminación de purines
7. Introducción de semen
8. Introducción de materiales y medicamentos
9. Transporte de animales
10. Eliminación de cadáveres y residuos biológicos
11. Control de plagas, roedores y animales silvestres.

Las medidas internas no tienen factor de corrección y proceden de la puntuación obtenida cuando se auditan las medidas que controlan la circulación de

patógenos cuando ya están presentes en el rebaño. Las medidas del área interna se agrupan en 5 bloques:

1. Manejo general
2. Gestación
3. Maternidad
4. Transición
5. Recría/engorde

3.3.2 Definiciones utilizadas en el sistema de evaluación

La encuesta se divide en la evaluación de tres grandes bloques:

1. Bioseguridad Externa: aquellas medidas destinadas a prevenir que patógenos causantes de enfermedades entren en la granja
2. Biocontención: aquellas medidas destinadas a prevenir que patógenos causadores de enfermedades sean diseminados fuera da granja
3. Bioseguridad Interna - Prevenir que patógenos causadores de enfermedades se diseminen dentro de la granja

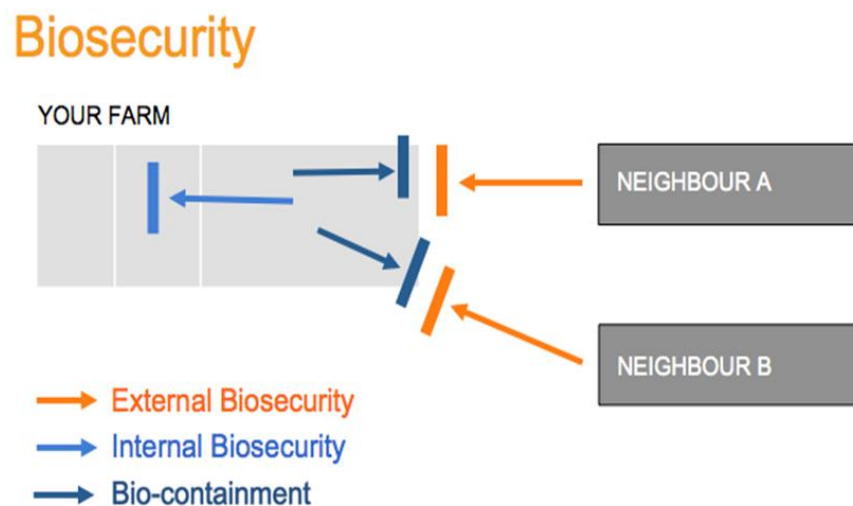


Figura 5. Tipos de bioseguridad definidos y su relación con las granjas adyacentes (original del sistema Topigs-Norvins).

Además de esto, en la explotación se definen las siguientes zonas:

- Área de Acceso Controlado (Controlled Access Zone - CAZ) - valla, árboles y arbustos que rodean la granja y restringen el acceso al área cercada de la granja.
- Área de Acceso Restringido (Restricted Access Zone - RAZ) - Barrera segura alrededor de las instalaciones para restringir el acceso de personas vehículos y animales



Figura 6. Definición de las zonas CAZ y RAZ de una granja (original del sistema Topigs-Norvins).

3.4. Método estadístico

Análisis de datos productivos

La diferencia entre granjas con y sin sintomatología relacionada con *A. pleuropneumoniae* para los datos productivos se constató mediante una t de Student con estudio previo de igualdad de la varianza mediante la prueba de Levene. Se consideraron diferencias cuando $p < 0,05$.

Análisis de frecuencias

Para las frecuencias de los factores predisponentes de bioseguridad, se utilizó una tabla de contingencia con χ^2 (chi cuadrado) como estadístico de contraste y un análisis posterior de residuos corregidos tipificados. Se consideraron diferencias entre grupos cuando $p < 0,05$ y los residuos tipificados corregidos fueron mayores de 1,96 en valor absoluto.

Análisis multivariante

Mediante una tabla de contingencia de doble entrada (factor de riesgo de bioseguridad y presencia/ausencia de signos clínicos) se calculó el riesgo u odds ratio (también denominado razón de probabilidades o razón de productos cruzados). Básicamente la fórmula es:

$$OR = \frac{a \times d}{b \times c}$$

Correspondiendo a= granja con síntomas expuesta al riesgo, b = granja sin síntomas expuesta al riesgo, c= granja con síntomas no expuesta al riesgo y d = granja sin síntomas expuesta al riesgo.

Cálculo del índice de estacionalidad

Para el cálculo del índice de estacionalidad en las bajas en transporte y los decomisos al sacrificio por pleuritis, se hizo una descomposición estacional, mediante medias móviles centradas de orden 12 y utilizando los ratios calculados como indica la fórmula:

$$Ratios \times 100 = \frac{N^{\circ} \text{ de eventos}}{\text{medias móviles}}$$

Finalmente el índice de estacionalidad se calculó mediante la fórmula:

$$\frac{\text{Mediana}_i}{\Sigma \text{Medianas}} = \frac{\text{Factor estacional}}{1200}$$

Se asume que un valor 100 para el factor estacional indica la normalidad y los valores superiores e inferiores indican aumento o disminución de la probabilidad de que ocurra un evento.

Análisis de comparación de medianas

La frecuencia de resistencias e indiferencias a los antibióticos se analizaron mediante análisis de mediana usando los test de Kruskal-Wallis para la comparación entre grupos y el test U de Mann-Whitney para las comparaciones dos a dos.

4. Resultados y discusión

4.1. Identificación de signos clínicos

La siguiente tabla muestra las granjas clasificadas por la presencia o ausencia de signos clínicos relacionados con *A. pleuropneumoniae*

Tabla 7. Identificación de signos clínicos respiratorios compatibles con pleuroneumonía contagiosa en las granjas estudiadas

Sigla de la granja	Estados	Signos clínicos
A	PR	Ausente
B	PR	Ausente
C	PR	Ausente
D	MT	Ausente
E	MT	Presente
F	MT	Presente
G	SP	Presente
H	SP	Presente
I	SP	Ausente
J	PR	Ausente
K	PR	Ausente
L	MG	Presente
M	MG	Presente
N	PR	Ausente
O	SP	Ausente
P	MG	Ausente
Q	MG	Presente
S	SP	Presente
T	PR	Ausente
U	SC	Ausente

De las granjas seropositivas incluidas en el estudio, 12 (60%) no mostraron signos compatibles con pleuroneumonía contagiosa, mientras que 8 (40%) sí tenían síntomas compatibles con la enfermedad. La distribución geográfica fue la siguiente: en Minas Gerais tres granjas presentaban signos clínicos y una no. En Mato Grosso dos tenían signos clínicos y una no. En el estado de São Paulo fueron cuatro con signos clínicos y una sin signos. En Paraná fueron siete sin signos clínicos y en Santa Catarina una sin signos clínicos.

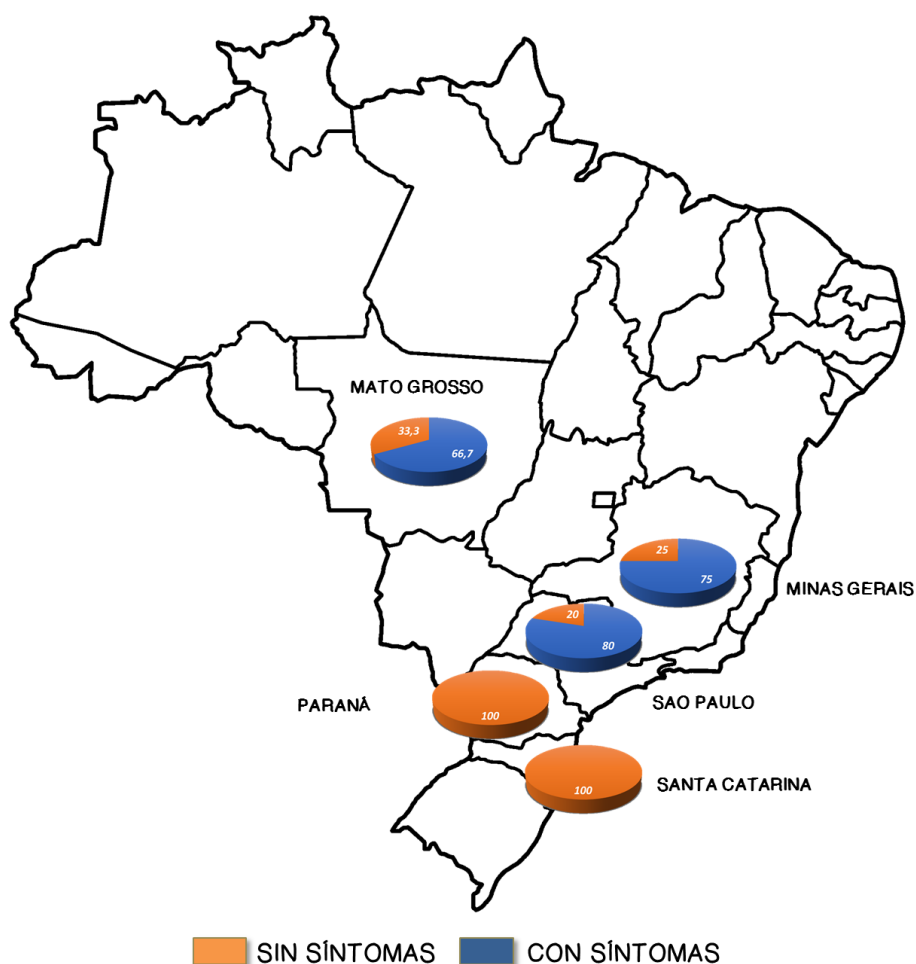


Figura 7. Frecuencia de granjas con síntomas distribuida por estados

Este hallazgo está de acuerdo con las afirmaciones de Gottschalk y Broes (2013), sobre la paradoja de la alta seroprevalencia en ausencia de síntomas. Según los autores, las cepas menos virulentas se diseminan más fácilmente y a más animales dentro de las granjas produciendo una alta seroprevalencia. Esto explicaría por qué el 60% de las granjas positivas mediante serología para ApxIV no mostraron síntomas compatibles con la enfermedad a lo largo de los 3 años de estudio.

4.2 Análisis de parámetros productivos

Finalmente, se obtuvieron datos productivos de 14 (70%) de las granjas implicadas en el estudio.

4.2.1 Análisis de resultados reproductivos

Las granjas positivas y negativas no tuvieron diferencias significativas en el tamaño (2358 ± 355 y 2017 ± 473 para las negativas y positivas, respectivamente). Esto nos sugiere, que, en este caso, el tamaño de la granja no tuvo influencia sobre los resultados.

Tomando todos los datos en conjunto, se encontraron diferencias significativas para los parámetros Fertilidad ($p=0,028$), cerdas inseminadas en los primeros 7 días postdestete ($p=0,004$), Lechones nacidos totales ($p<0,001$), lechones nacidos vivos ($p<0,001$), lechones destetados por camada ($p<0,001$), destetados/cerda/años ($p<0,001$), peso al destete ($p<0,001$) y edad al destete ($p=0,002$). No fue significativa la diferencia en mortalidad de reproductoras. La siguiente tabla muestra los valores medios para estos parámetros.

Tabla 8. Estadísticos descriptivos para los parámetros reproductivos tomando el conjunto de datos

	APP	N	Media	Desviación típ.	Error típ. de la media
Fertilidad	NEGATIVO	27	90,2648	2,55005	,49076
	POSITIVO	14	88,3693	2,44502	,65346
Cerdas inseminadas 7 días	NEGATIVO	27	93,3122	4,47153	,86055
	POSITIVO	14	87,1129	8,76279	2,34195
Lechones nacidos totales	NEGATIVO	27	14,7844	,64767	,12464
	POSITIVO	14	14,0000	,52310	,13980
Lechones nacidos vivos	NEGATIVO	27	13,5256	,52944	,10189
	POSITIVO	14	12,5071	,42907	,11467
Mortalidad reproductoras	NEGATIVO	27	9,9048	3,38463	,65137
	POSITIVO	14	7,9664	4,39380	1,17429
Lechones destetados camada	NEGATIVO	27	73443,13	56552,713	10883,575
	POSITIVO	14	55767,36	51333,682	13719,504
Lechones destetados/cerda/año	NEGATIVO	27	30,0526	1,54583	,29750
	POSITIVO	14	27,2014	1,29345	,34569
Peso al destete	NEGATIVO	24	6,3917	,31522	,06434
	POSITIVO	14	5,7607	,27351	,07310
Edad al destete	NEGATIVO	27	23,6415	1,38735	,26700
	POSITIVO	14	22,2207	1,19740	,32002

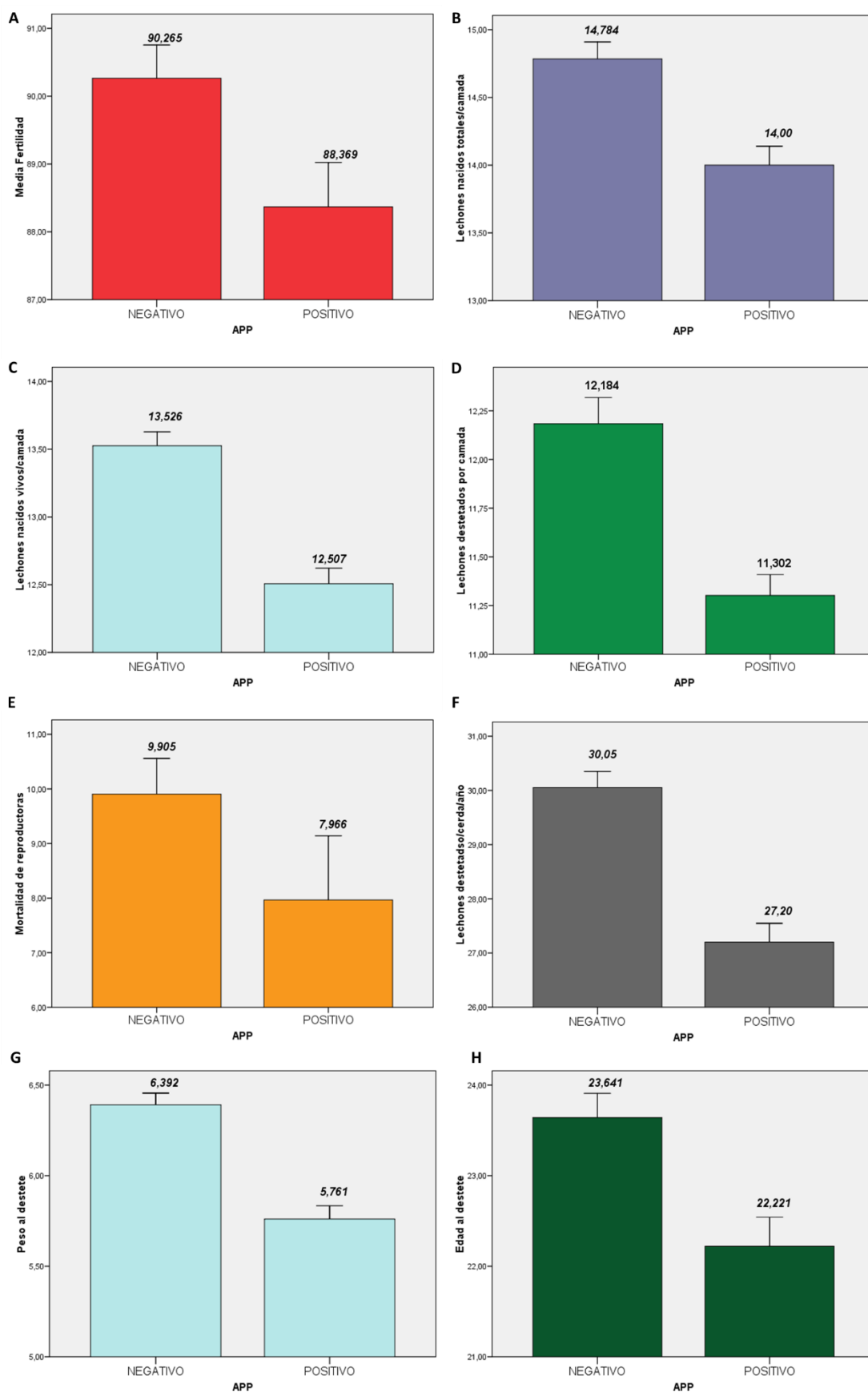


Figura 8. Parámetros reproductivos. A) Fertilidad, B) Lechones nacidos totales, C) Lechones nacidos vivos, D) Lechones destetados por camada, E) Mortalidad reproductoras, F) Lechones destetados/cerda/año, G) Peso al destete, H) Edad al destete. Media±SEM.

Sin embargo, en este estudio estaban involucrados 3 genéticas distintas, que pueden producir resultados muy diferentes. Por este motivo, se analizaron los datos segmentando según la genética. Al hacer este análisis se excluyeron los resultados de la genética DANBRED puesto que solo había granjas positivas. Los estadísticos descriptivos aparecen en la siguiente tabla:

Tabla 9. Estadísticos descriptivos para los parámetros reproductivos, segmentando por genética

GENETICA		APP	N	Media	Desviación típ.	Error típ. de la media
TOPIGS	Fertilidad	NEGATIVO	21	89,8695	2,76188	,60269
		POSITIVO	5	87,2260	3,36352	1,50421
	Cerdas inseminadas 7 días	NEGATIVO	21	93,0814	4,95910	1,08216
		POSITIVO	5	92,0900	2,05883	,92074
	Lechones nacidos totales	NEGATIVO	21	14,8767	,69636	,15196
		POSITIVO	5	13,9440	,54284	,24277
	Lechones nacidos vivos	NEGATIVO	21	13,5090	,58864	,12845
		POSITIVO	5	12,5660	,50128	,22418
	Mortalidad reproductoras	NEGATIVO	21	12,1214	,77894	,16998
		POSITIVO	5	11,3520	,57643	,25779
	Lechones destetados camada	NEGATIVO	21	10,2500	3,47601	,75853
		POSITIVO	5	8,5640	4,79098	2,14259
	Lechones destetados/cerda/año	NEGATIVO	21	30,0690	1,72266	,37591
		POSITIVO	5	27,0200	1,73983	,77807
	Peso al destete	NEGATIVO	18	6,4133	,36051	,08497
		POSITIVO	5	5,7980	,44342	,19830
Edad al destete	NEGATIVO	21	23,4243	1,46111	,31884	
	POSITIVO	5	22,2420	,69701	,31171	
PIC	Fertilidad	NEGATIVO	6	91,6483	,59084	,24121
		POSITIVO	3	89,2500	1,38025	,79689
	Cerdas inseminadas 7 días	NEGATIVO	6	94,1200	2,14346	,87507
		POSITIVO	3	80,7300	17,22840	9,94682
	Lechones nacidos totales	NEGATIVO	6	14,4617	,28442	,11612
		POSITIVO	3	14,0900	,55561	,32078
	Lechones nacidos vivos	NEGATIVO	6	13,5833	,25781	,10525
		POSITIVO	3	12,6167	,30551	,17638
	Mortalidad reproductoras	NEGATIVO	6	12,4017	,17463	,07129
		POSITIVO	3	11,4833	,03786	,02186
	Lechones destetados camada	NEGATIVO	6	8,6967	2,99790	1,22389
		POSITIVO	3	8,0400	1,31145	,75717
	Lechones destetados/cerda/año	NEGATIVO	6	29,9950	,74199	,30292
		POSITIVO	3	28,3067	,16653	,09615
	Peso al destete	NEGATIVO	6	6,3267	,09180	,03748
		POSITIVO	3	5,6633	,18771	,10837
Edad al destete	NEGATIVO	6	24,4017	,76012	,31032	
	POSITIVO	3	23,3200	1,31685	,76029	

Al segmentar por genéticas, se observaron diferencias en los parámetros Lechones nacidos totales ($p=0,013$), Lechones nacidos vivos ($p=0,003$), lechones destetados por camada ($p=0,38$), lechones destetados/cerda/año ($p=0,002$), peso al destete ($p=0,032$) y edad al destete ($p=0,19$) en el caso de la genética TOPIGS NORVINS, y para los parámetros fertilidad ($p=0,007$), Lechones nacidos vivos ($p=0,013$), lechones destetados por camada ($p<0,001$), lechones destetados/cerda(año ($p=0,002$), y peso al destete ($p=0,017$) en el caso de las granjas con genética PIC.

Se aprecia como prácticamente se mantienen todas las diferencias que se habían observado en el conjunto total de los datos, lo que sugiere que, en este estudio las diferencias entre granjas con y sin síntomas se producen en ambas genéticas analizadas.

No existen muchos reportes en la literatura científica sobre los efectos de la infección por *A. pleuropneumoniae* en los rendimientos reproductivos de cerdas. Se ha demostrado en algunas granjas una relación entre la prevalencia de App y una mayor mortalidad durante la lactación (Regula et al., 2003), sin embargo, en este caso, ambos grupos tuvieron una mortalidad cercana al 10% (10,6 y 10,9%, respectivamente). Otras especies del género *Actinobacillus*, como *A. suis* si tiene efectos conocidos sobre la reproducción. Así, Mauch y Bilkei (2004), reportaron abortos tardíos hasta en el 7% de las multíparas y nulíparas de una granja croata.

En este caso, se aprecian rendimientos reproductivos mucho mejores en las granjas sin síntomas, comparadas con las granjas con síntomas. Es interesante el hecho de que la mortalidad de reproductoras sea mayor en las granjas sin síntomas, especialmente en aquellas con genética TOPIGS NORVINS donde hay casi un 2% de diferencia. No hay una explicación para este fenómeno, ni siquiera el tamaño de granja ya que no fue significativamente distinto en ambos grupos para la genética TOPIGS (2.247 frente a 3.494, $p=0,246$), pero sí en las granjas PIC (2.748 frente a 1.676 cerdas, $p=0,028$). Tampoco hubo diferencias significativas en el censo medio de las granjas con y sin síntomas al comparar las genéticas.

Unos mejores rendimientos podrían ser el resultado de un mejor estado de salud general en las granjas sin síntomas.

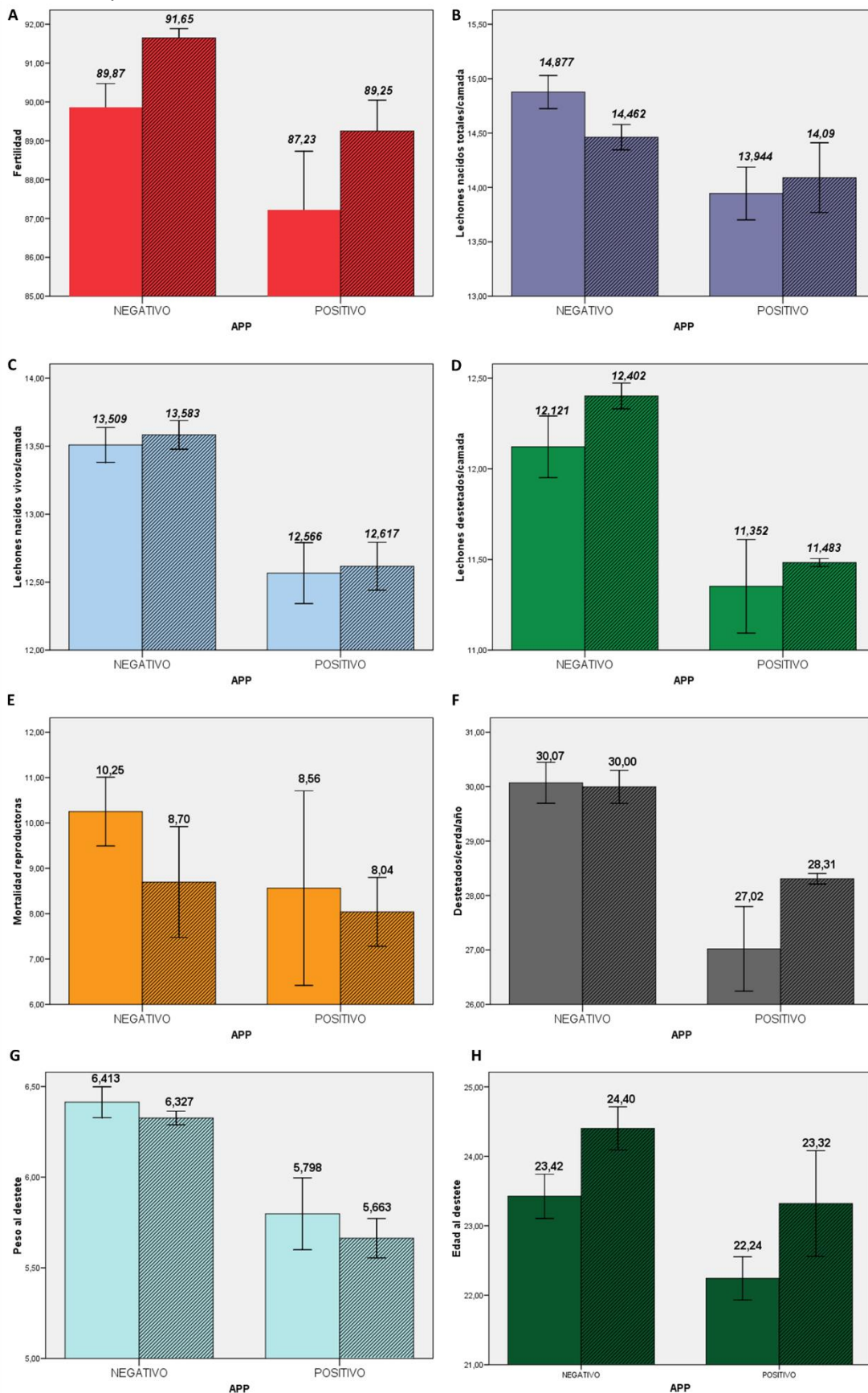


Figura 9. Parámetros reproductivos A) Fertilidad, B) Lechones nacidos totales, C) Lechones nacidos vivos, D) Lechones destetados por camada, E) Mortalidad reproductoras, F) Lechones destetados/cerda/año, G) Peso al destete, H) Peso al destete. Segmentados por genética. La barra en color sólido son los datos de TOPIGS NORVINS y la barra con trama a la genética PIC. Media±SEM

4.2.2 Análisis de datos productivos en transición

La siguiente tabla muestra los estadísticos descriptivos para los parámetros analizados en transición, tomando el conjunto de los datos incluidos en la base.

Tabla 10. Estadísticos descriptivos para los parámetros en transición para todos los datos

	APP	N	Media	Desviación típica	Error típico de la media
Bajas	NEGATIVO	26	1,6392	,68003	,13336
	POSITIVO	11	2,0027	,59083	,17814
GMD	NEGATIVO	26	402,6923	28,52475	5,59416
	POSITIVO	11	371,1818	46,98685	14,16707
IT	NEGATIVO	26	1,5156	,09393	,01842
	POSITIVO	11	1,6645	,17598	,05306
Edad_cebo	NEGATIVO	26	64,2638	2,78221	,54564
	POSITIVO	11	63,4636	6,08692	1,83527
PME	NEGATIVO	26	23,3627	2,23304	,43794
	POSITIVO	11	21,1318	3,62223	1,09214

Las diferencias que se observaron fueron en Ganancia Media Diaria ($p=0,02$) y Peso medio a la salida a cebo ($p=0,028$).

Al igual que se hizo con los datos reproductivos, se segmentó por genética para descartar el efecto de la misma sobre los resultados, descartando de nuevo los datos de las granjas con genética DANBRED.

Los resultados para los estadísticos básicos aparecen en la siguiente tabla.

Tabla 11. Estadísticos descriptivos para los parámetros en transición para todos los datos segmentando por genética.

GENETICA	APP	N	Media	Desviación típ.	Error típ. de la media		
TOPIGS	Bajas	NEGATIVO	21	1,5914	,73022	,15935	
		POSITIVO	2	1,2900	,48083	,34000	
	GMD	NEGATIVO	21	404,5714	30,67991	6,69491	
		POSITIVO	2	426,0000	16,97056	12,00000	
	IT	NEGATIVO	21	1,5136	,10354	,02259	
		POSITIVO	2	1,5750	,16263	,11500	
	Edad_cebo	NEGATIVO	21	63,9133	2,90779	,63453	
		POSITIVO	2	66,7500	,63640	,45000	
	PME	NEGATIVO	21	23,4690	2,46265	,53739	
		POSITIVO	2	24,5250	,48790	,34500	
	PIC	Bajas	NEGATIVO	5	1,8400	,40218	,17986
			POSITIVO	3	1,7567	,61906	,35741

GMD	NEGATIVO	5	394,8000	16,81368	7,51931
	POSITIVO	3	404,3333	26,40707	15,24613
IT	NEGATIVO	5	1,5240	,03782	,01691
	POSITIVO	3	1,6367	,06028	,03480
Edad_cebo	NEGATIVO	5	65,7360	1,65802	,74149
	POSITIVO	3	66,9667	,56862	,32830
PME	NEGATIVO	5	22,9160	,73036	,32663
	POSITIVO	3	23,3233	1,40051	,80859

En este caso, las diferencias se observan en edad de salida a cebo ($p=0,007$) para la genética TOPIGS NORVINS y para índice de transformación ($p=0,016$) en la genética PIC.

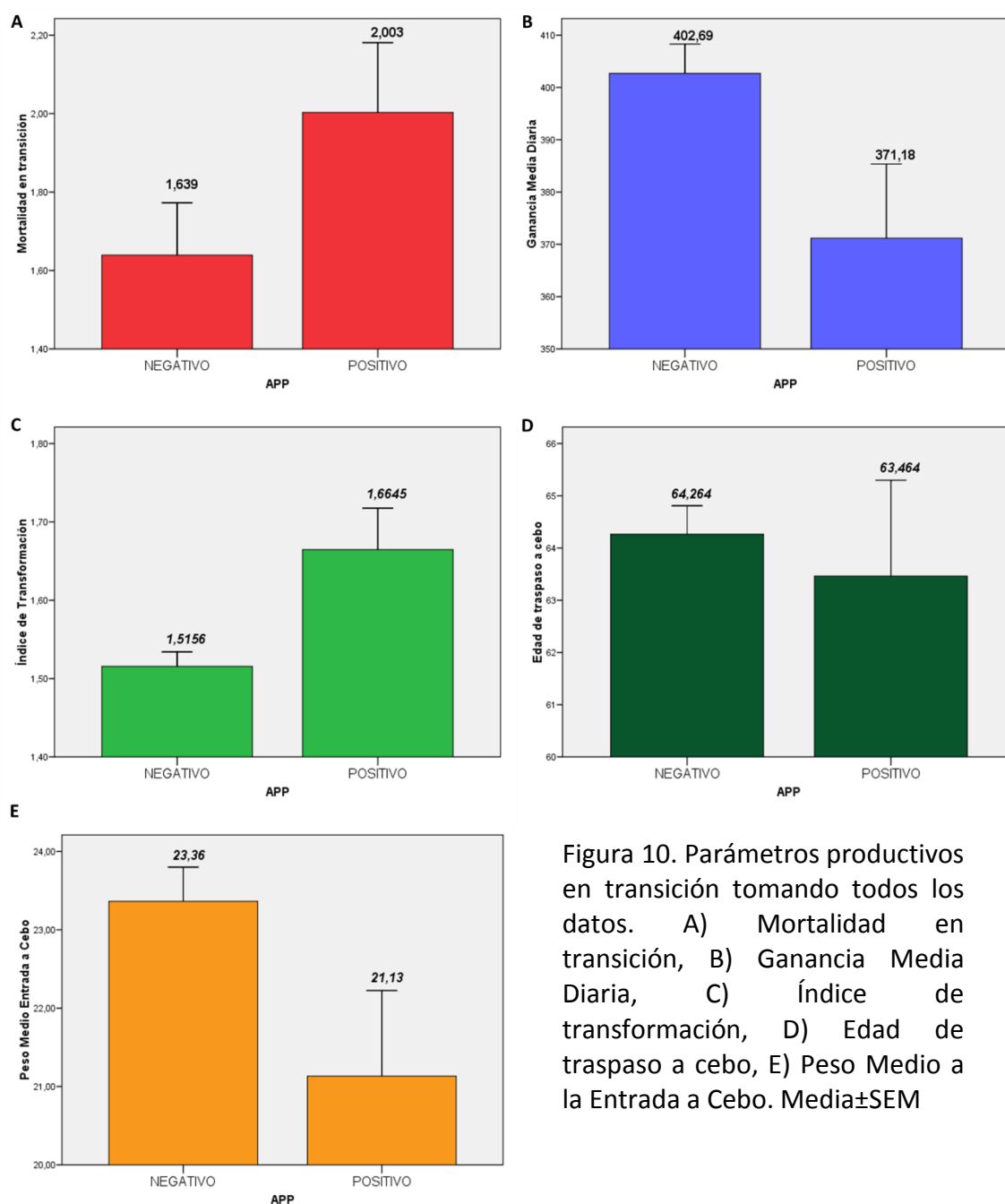


Figura 10. Parámetros productivos en transición tomando todos los datos. A) Mortalidad en transición, B) Ganancia Media Diaria, C) Índice de transformación, D) Edad de traspaso a cebo, E) Peso Medio a la Entrada a Cebo. Media±SEM

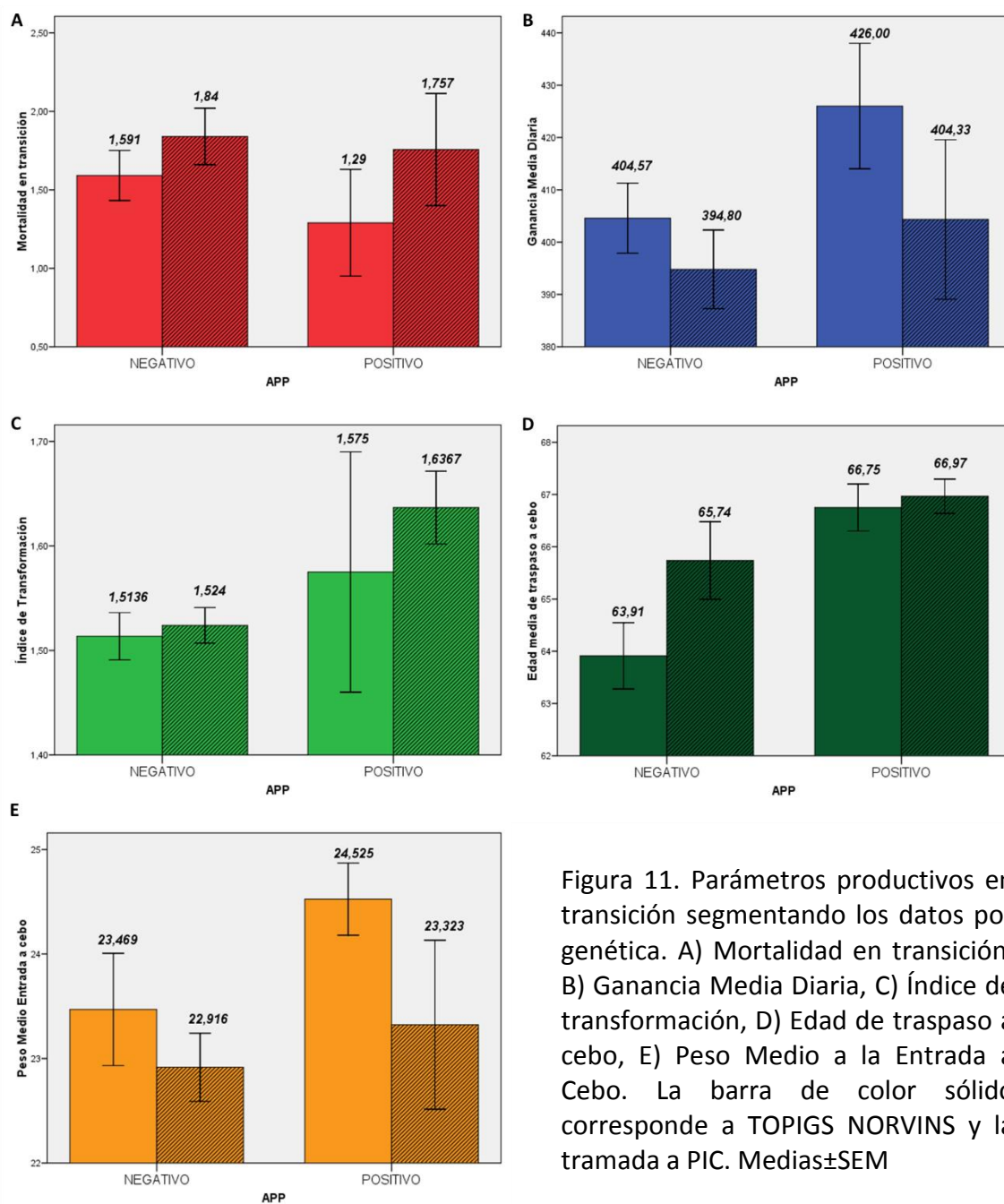


Figura 11. Parámetros productivos en transición segmentando los datos por genética. A) Mortalidad en transición, B) Ganancia Media Diaria, C) Índice de transformación, D) Edad de traspaso a cebo, E) Peso Medio a la Entrada a Cebo. La barra de color sólido corresponde a TOPIGS NORVINS y la tramada a PIC. Medias±SEM

El hecho de observar ganancias de peso superiores en animales infectados por App comparados con animales no infectados ya había sido documentado anteriormente en Holanda con infecciones por serotipos 2 y 3 (Holmgren et al., 1999). De nuevo los

rendimientos productivos podrían ser el resultado de un mejor estado de salud general de las granjas sin síntomas.

4.2.3 Análisis de datos productivos en cebo

Los estadísticos descriptivos para los parámetros de cebo estudiados, tomando el conjunto de datos, se muestran en la siguiente tabla.

Tabla 12. Estadísticos descriptivos para los parámetros en cebo para todos los datos

PARÁMETRO	SÍNTOMAS	N	Media	Desviación tít.	Error tít. de la media
Edad al sacrificio	NEGATIVO	26	166,2969	11,65895	2,28651
	POSITIVO	11	168,8455	5,35544	1,61473
Mortalidad en cebo	NEGATIVO	26	2,1962	,59688	,11706
	POSITIVO	11	4,2418	2,74231	,82684
Ganancia Media Diaria	NEGATIVO	26	826,0777	253,00568	49,61850
	POSITIVO	11	809,5455	98,19406	29,60662
Índice de Transformación	NEGATIVO	26	2,4193	,17759	,03483
	POSITIVO	11	2,6718	,27118	,08176
Duración media cebo	NEGATIVO	26	101,2415	9,89905	1,94136
	POSITIVO	11	105,2818	6,65009	2,00508
Peso Medio al sacrificio	NEGATIVO	26	114,9565	12,76337	2,50310
	POSITIVO	11	106,3636	12,85642	3,87636
Coste en medicación por cerdo	NEGATIVO	23	2,9422	,26966	,05623
	POSITIVO	11	4,6568	,85921	,25906

Se observaron diferencias significativas en los parámetros Mortalidad en cebo ($p=0,001$), Índice de Transformación a 100 Kg ($p=0,013$) y Coste en medicación por cerdo ($p<0,001$), al comparar las granjas con y sin síntomas.

Como en los grupos de datos anteriores, se segmentó por genética para descartar el efecto de ésta sobre los resultados. Los estadísticos básicos segmentados aparecen en la tabla 13, excluyendo como en los casos anteriores los datos de las granjas DANBRED. Se observaron diferencias significativas para Mortalidad ($p=0,028$) y coste de medicación por cerdo ($p<0,001$) para las granjas con TOPIGS NORVINS y en Índice de transformación ($p=0,031$) y Coste en mediación por cerdo ($p<0,001$) para las granjas con genética PIC.

Tabla 13. Estadísticos descriptivos para los parámetros en cebo segmentando los datos por genética

GENETICA	PARÁMETRO	SÍNTOMAS	N	Media	Desviación típ.	Error típ. de la media
TOPIGS	Edad al sacrificio	NEGATIVO	21	165,1776	12,55960	2,74073
		POSITIVO	2	162,0000	,28284	,20000
	Mortalidad en cebo	NEGATIVO	21	2,1471	,63960	,13957
		POSITIVO	2	3,8050	,31820	,22500
	Ganancia Media Diaria	NEGATIVO	21	797,7629	274,32918	59,86353
		POSITIVO	2	800,5000	4,94975	3,50000
	Índice de Transformación	NEGATIVO	21	2,4440	,18606	,04060
		POSITIVO	2	2,6900	,09899	,07000
	Duración media cebo	NEGATIVO	21	100,0233	10,61113	2,31554
		POSITIVO	2	95,2000	,42426	,30000
	Peso Medio al sacrificio	NEGATIVO	21	112,8752	13,27366	2,89655
		POSITIVO	2	100,7300	,29698	,21000
	Coste en medicación por cerdo	NEGATIVO	18	3,4472	,31632	,07456
		POSITIVO	2	4,6250	1,16673	,82500
PIC	Edad al sacrificio	NEGATIVO	5	170,9980	5,16235	2,30867
		POSITIVO	3	174,9667	1,61658	,93333
	Mortalidad en cebo	NEGATIVO	5	2,4020	,34003	,15207
		POSITIVO	3	1,9433	,54501	,31466
	Ganancia Media Diaria	NEGATIVO	5	945,0000	43,64058	19,51666
		POSITIVO	3	911,3333	22,18859	12,81059
	Índice de Transformación	NEGATIVO	5	2,3160	,08649	,03868
		POSITIVO	3	2,4800	,07000	,04041
	Duración media cebo	NEGATIVO	5	106,3580	2,99168	1,33792
		POSITIVO	3	107,7333	2,13854	1,23468
	Peso Medio al sacrificio	NEGATIVO	5	123,6980	4,35190	1,94623
		POSITIVO	3	121,5067	4,06361	2,34613
	Coste en medicación por cerdo	NEGATIVO	5	3,5060	,35282	,15778
		POSITIVO	3	4,7000	,52915	,30551

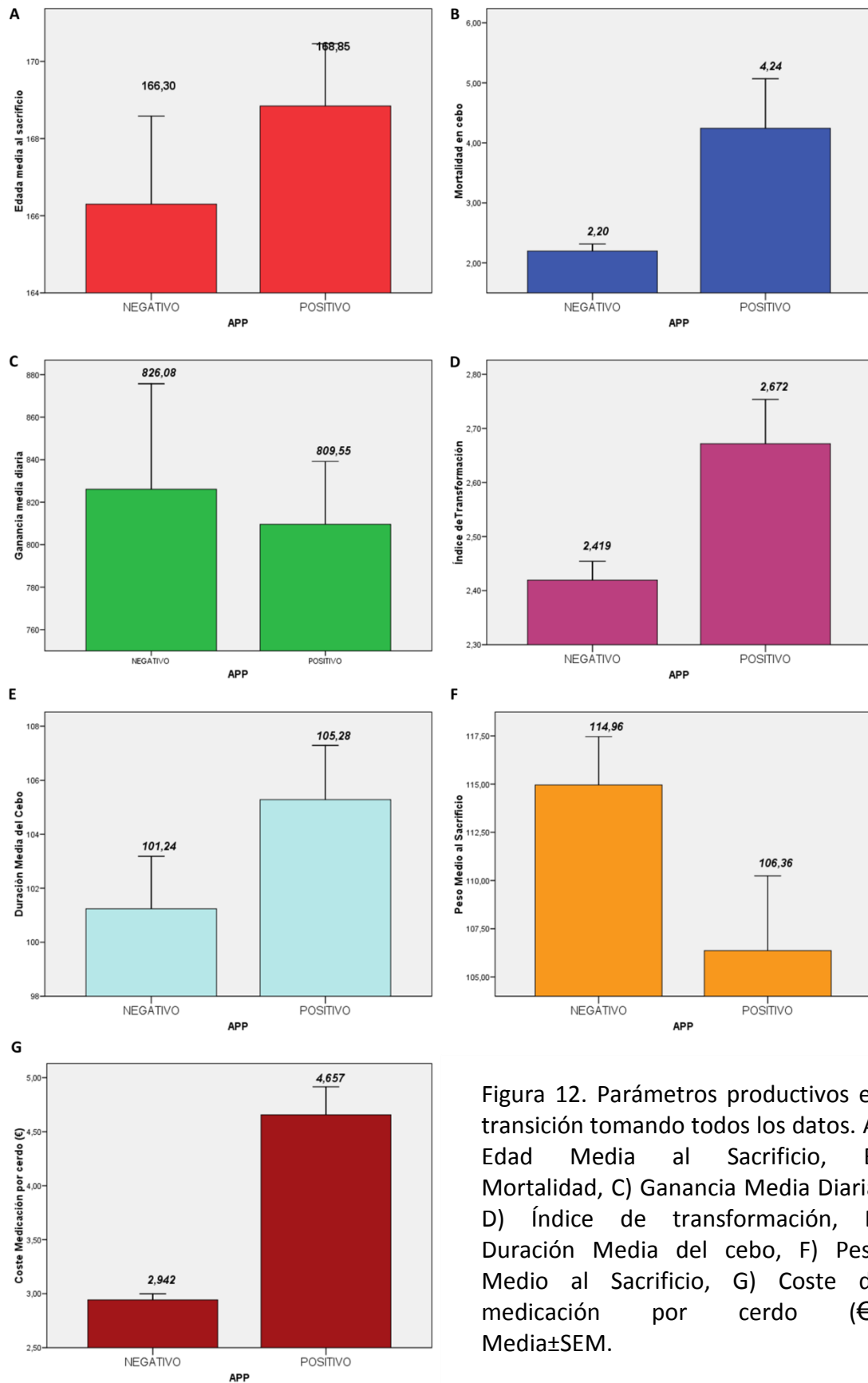


Figura 12. Parámetros productivos en transición tomando todos los datos. A) Edad Media al Sacrificio, B) Mortalidad, C) Ganancia Media Diaria, D) Índice de transformación, E) Duración Media del cebo, F) Peso Medio al Sacrificio, G) Coste de medicación por cerdo (€). Media±SEM.

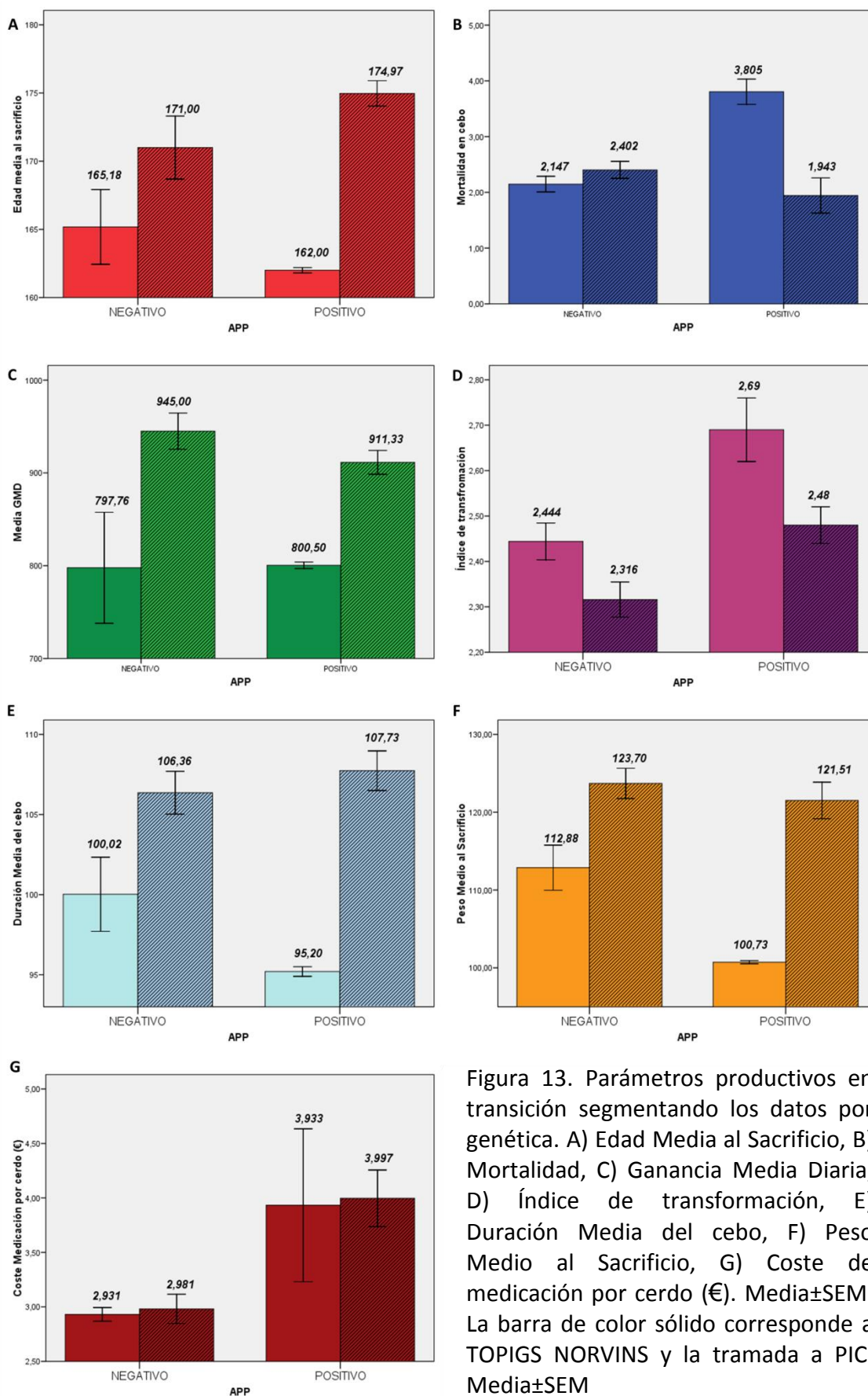


Figura 13. Parámetros productivos en transición segmentando los datos por genética. A) Edad Media al Sacrificio, B) Mortalidad, C) Ganancia Media Diaria, D) Índice de transformación, E) Duración Media del cebo, F) Peso Medio al Sacrificio, G) Coste de medicación por cerdo (€). Media±SEM. La barra de color sólido corresponde a TOPIGS NORVINS y la tramada a PIC. Media±SEM

Es interesante la diferencia en mortalidad, ya que las granjas con síntomas tienen el doble que las que no mostraron, lo que ya había sido constatado con anterioridad, generalmente al comparar animales vacunados frente a no vacunados (Hunneman, 1986, Wilson et al., 1986; Byrd et al., 1992), y en el índice de transformación en granjas infectadas y no infectadas (Bernardo et al., 1990, Christensen, 1995). Los mismos autores encuentran diferencias significativas en el crecimiento, cosa que no ocurre en el presente estudio. Es interesante constatar como la mortalidad difirió en el caso de los animales TOPIGS, pero no en los PIC. Del mismo modo, la eficiencia alimentaria solo fue significativa en los animales PIC y no en los TOPIGS. En otros casos, comparando parámetros productivos antes y después de una intervención terapéutica para mitigar los efectos clínicos de la pleuroneumonía solo se han encontrado diferencias numéricas sin significancia estadística en ganancia media diaria e índice de transformación (del Pozo et al., 2014).

El aumento en el coste en medicación es constante en ambas genéticas, como era de esperar y ya había sido registrado (Hunneman, 1986)

4.2.4 Diferencias económicas entre grupos

Es de destacar la diferencia en el índice de transformación entre granjas con y sin síntomas constatado en las dos genéticas: 246 g para TOPIGS y 164 para PIC. Al comparar las diferencias entre granjas positivas y negativas de las dos genéticas, hubo diferencias entre las negativas de TOPIGS y PIC ($p=0,038$), pero no entre las que tenían síntomas ($p= 0,144$); lo que indica distintos potenciales de crecimiento de cada una de las genéticas en ausencia de enfermedad. Solo la diferencia en este parámetro, tomado de forma aislada y con los costes de producción del 2015, supondrían unos 3,22-5,3 €/cerdo para la genética TOPIGS en Mato Grosso o Santa Catarina y unos 2,15-3,53 €/cerdo para la genética PIC en Mato Grosso o Santa Catarina (precio del pienso en Mato Grosso 0,158 €/kg y en Santa Catarina de 0,26 €/kg, tomado de los datos de EMBRAPA publicados por AHDB 2017 Pig cost of production in selected countries; <https://ahdb.org.uk/knowledge-library/2017-pig-cost-of-production-in-selected-countries>).

Los costes de lechón y cerdo de cebo calculados para las granjas con y sin síntomas tomando todos los datos aparecen en la siguiente tabla:

Tabla 14. Coste de producción de lechón tomando todos los datos

Síntomas	Coste lechón	Diferencia Neg-Pos
NEGATIVA	38,46	-2,28
POSITIVA	40,74	

Se observa una diferencia de más de 2 € de ahorro por lechón en las granjas que no tienen síntomas comparadas con las que los tienen.

Tabla 15. Coste de producción de lechón segregando por genética.

Genética	Síntomas	Coste lechón	Diferencia Neg-Pos
TOPIGS	NEGATIVA	37,82	-2,45
	POSITIVA	40,27	
PIC	NEGATIVA	38,13	-1,32
	POSITIVA	39,45	

Se ha calculado que la diferencia en el coste de producción es mayor en las cerdas TOPIGS NORVINS que en las cerdas PIC.

Se llevó a cabo también el cálculo del coste de producción de cerdo de cebo, Los resultados aparecen en las siguientes tablas.

Tabla 16. Coste de producción de lechón tomando todos los datos

Síntomas	Coste cebo	Diferencia Neg-Pos
NEGATIVA	124,23	-8,75
POSITIVA	132,98	

Tabla 17. Coste de producción de lechón segmentando por genética.

Genética	Síntomas	Coste cebo	Diferencia Neg-Pos
TOPIGS	NEGATIVA	122,93	-1,61
	POSITIVA	124,54	
PIC	NEGATIVA	129,20	-1,68
	POSITIVA	130,88	

Tomando todos los datos se ha observado una diferencia de 8,75 € menos en el coste de cada cerdo llevado a matadero en las granjas sin síntomas. Al segregar los datos por genética, se observa una diferencia de 1,61 y 1,68 € por cerdo de cebo para las granjas TOPIGS y PIC, respectivamente. La diferencia tan acusada entre el global de los datos y segregados por genética lo marcan los datos de las granjas DANBRED que solo tienen granjas positivas.

Sumando el total de diferencias de coste en transición y cebo, las granjas sin síntomas produjeron cada cerdo llevado a matadero 11,03 € más barato. Por genéticas, las granjas con TOPIGS NORVINS produjeron 4,06 € más barato por cerdo sacrificado y las granjas con genética PIC produjeron 3 € más barato cada cerdo.

4.3 Identificación de la bacteria en las granjas

4.3.1. Identificación de la presencia de App mediante PCR para serogrupos

Finalmente se analizaron 139 muestras procedentes de 17 granjas diferentes.

Los resultados obtenidos mediante PCR convencional para serogrupos del material recogido en las amígdalas de los animales aparecen en la siguiente tabla:

Tabla 18. Prevalencia de App determinado mediante PCR

Grupos	Serotipos	
	incluidos	Frecuencia
1	1, 9 11 y 12	1,44
2	2 y 8	3,60
3	3, 4, 6, 7	59,71
4	5	0,00
5	10	0,00
NEGATIVO		21,58
INDETERMINADO		13,67

Un total del 30,34% de las muestras fueron negativas en la PCR. Entre las positivas, el grupo más prevalente fue el Serogrupo 3 (3,4,6,7) con un 50,68% de las muestras positivas, seguido por las cepas no identificables (13,67%), el Serogrupo 2 (2 y 8) con un 5,08% de muestras positivas y el Serogrupo 1 (1, 9 11 y12) con un 1,07% de las muestras positivas.

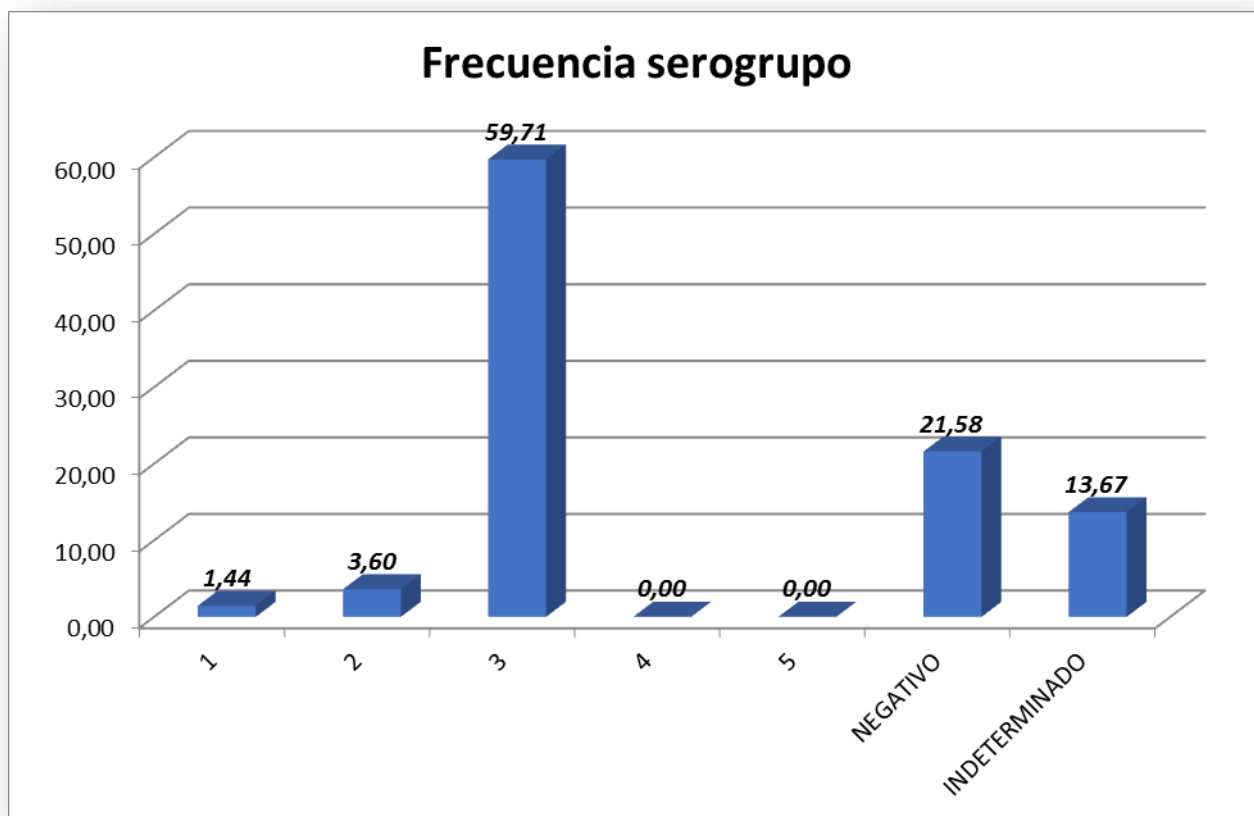


Figura 14. Frecuencia de los serogrupos encontrados (n=139)

Cabe destacar que el número de cepas no tipables (indeterminado); que son un 13,7%, están dentro del rango descrito en la literatura en distintos países: desde el 3,5% en Reino Unido (Li et al., 2015) o Filipinas (Torres et al., 2009) hasta el 24% en Corea (Lee et al., 2014) y el 25% en España (Maldonado et al., 2009). Esto indica que hay numerosas cepas que no se pueden tipar con la tecnología disponible. Los continuos avances en diagnóstico y biología molecular hace que se reevalúen continuamente cepas que se clasificaron como *no tipables* en su momento. Y esto lleva a que se propongan nuevos serotipos como el 17 y 18, determinado en muestras procedentes de EE.UU., Alemania, Dinamarca, España o Italia (Bossé et al., 2018).

4.3.2. Identificación de la presencia de App mediante PCR para serotipos

Los datos de frecuencia para cada serotipo individual aparecen en la tabla 19.

Tabla 19. Frecuencia de hallazgo de cada serotipo de forma individual

Grupos Serotipos	Frecuencia
1	0
2	0
3	0
4	4,2
5	4,2
6	0
7	66,7
8	0
9 y 11	0
10	0
12	12,5
15	12,5

Se han elegido algunos países en los que se ha determinado la frecuencia de serotipos de *A. pleuropneumoniae*, que se muestran en la Tabla 20.

En este caso, el serotipo más frecuente ha sido el 7 (66,7%), con una frecuencia similar a la encontrada en países como España (Maldonado et al., 2009) o Chile (Neira-Ramírez et al., 2012), y en Canadá, aun no siendo tan frecuente, se haya en el 37% de las muestras (Gottschlak y Lacouture, 2015). Sin embargo, en todos los demás países este serotipo es mucho menos frecuente. En Brasil, es estudios en distintos periodos de tiempo, se ha encontrado con más frecuencia el serotipo 3, 5 y 6, pero en los estudios anteriores el serotipo 7 está entre el 7-13%. Esto se puede deber a la diferencia en el tiempo entre estos estudios y el que se presenta en este trabajo. Como

se puede apreciar en diversos estudios, la frecuencia de hallazgo de los serotipos cambia evidentemente a lo largo del tiempo (Blackall et al., 1999; O'Neill et al, 2010; Li et al., 2015)

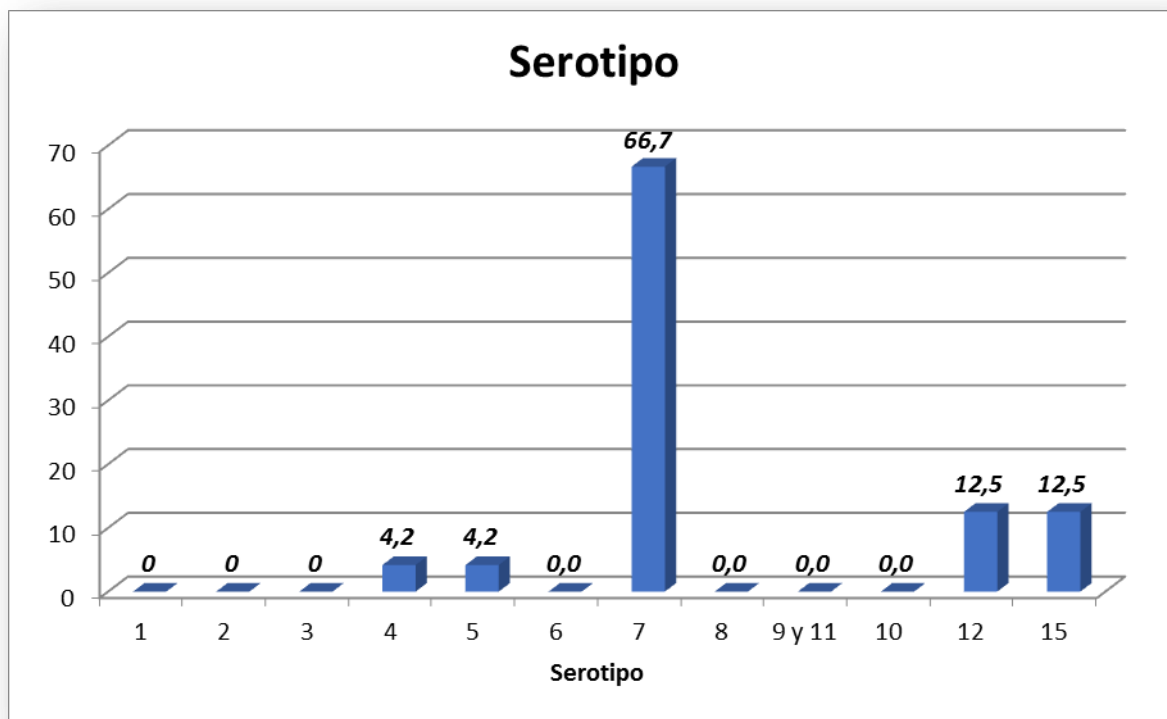


Figura 15. Prevalencia de serotipos individuales

Los resultados difieren de los descritos en Brasil por Kuchiishi et al. (2007), que caracterizando 399 cepas de *A. pleuropneumoniae* aisladas en diferentes estados de Brasil entre 2003 y 2006, observaron como el más prevalente el serotipo 5 (14,8%) de las cepas seguido del 3 (13,8%), 10 (7,3%), 6 (6,5%) y 7 (5%). Un total de 171 muestras aisladas no fueron tipificables en el estudio (42,8%). En nuestro estudio un 30% de las muestras tomadas fueron no tipables mediante la PCR utilizada. Esto indica que en general, hay un porcentaje muy alto de cepas que no se pueden caracterizar con las tecnologías actualmente disponibles. También es discrepante el resultado que hemos obtenido para el serotipo 4 con los previamente publicados en Brasil, y es de destacar el hallazgo del serotipo 12 y sobre todo del serotipo 15, del que no ha habido reportes previos en Brasil hasta donde llega nuestro conocimiento.

Tabla 20. Frecuencia de serotipos en algunos países

País	Autor	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	15	nt
Japón	Fukuyasu et al., 1996	36,3	52,5	1,4		6,2		1,5	1,5				0,5		
Australia (1993-1996)	Blackall et al., 1999	27,5	1,3	0,8		2,4		22					37,6		
Dianamarca	Dubreil et al., 2000		84				11								
Bélgica	Maes et al., 2002		36	21		10				15					
Chequia	Šatran et al., 2002		15,7							66,4		4,1	7,4		
Chequia	Kucerova et al., 2005		18,5		2,4	2,4		2,4		46,5		14,2	2,4		
Brasil (1993-1999)	Kuchiishi et al., 2007	4		34	8	35		7				1	5		
Brasil (2000-2006)	Kuchiishi et al., 2007	3		21	5	24	26	13	12			1			
Filipinas	Torres et al. 2008	1,8	0	15,8	5,3	59,6	0	0	0	0	0	14	0	--	3,5
España	Maldonado et al., 2009		4,7		4,7			68,5				1,6			25,2
Reino Unido	O'Neill et al, 2010		3,4				10,1	5,3	78				2,7		
Chile	Neira-Ramírez et al., 2012				12		28	60							
Reino Unido	Li et al., 2015		6,2				7,1	8	71,7				3,5		3,5
Corea	Lee et al, 2015	27,7	7,4			37,03		1,85					1,85		24,07
Corea	Kim et al., 2016	33,9	13,8		3,1	35,4		9,2			1,5		3,1		
Canadá	Gottschalk y Lacouture, 2015	4,5	4,5			39		37	8				7		

4.3.3 Cultivo del patógeno e identificación por granja

La tabla 20 muestra los resultados de cultivo y tipificación individual en las granjas incluidas en el estudio, y la Tabla 21 los resultados obtenidos para la granja G, que se tomó como ejemplo. La tabla 20 muestra además otros hallazgos de patógenos concomitantes.

En 6 de las 8 granjas positivas (75%) se consiguió cultivar el patógeno y tipificarlo. En las otras dos no fue posible el cultivo, aunque se encontró evidencias de la bacteria mediante PCR.

Tabla 21. Identificación del patógeno en las granjas estudiadas

Sigla de la granja	Estados	Signos clínicos	Identificación de la bacteria		Observaciones.	Serotipo
			(AISLAMIENTO O PCR)	Identificación de patógenos concurrentes		
A	PR	Ausente		Negativa		
B	PR	Ausente		Negativa		
C	PR	Ausente		Negativa		
D	MT	Ausente		Negativa		
E	MT	Presente		Positiva	En 2017, el diagnóstico microbiológico del agente se realizó aislando la cepa de un animal en la fase de crecimiento que presentaba signos clínicos de dificultad respiratoria y fiebre con una temperatura de 40,5° C. El aislamiento se realizó a partir del nódulo pulmonar y dentro de los bronquios.	5
F	MT	Presente		Positiva	En 2017, el diagnóstico microbiológico del agente se realizó aislando la cepa de los animales en la fase de crecimiento que presentaban signos clínicos de dificultad respiratoria. La autopsia se realizó en un animal con una temperatura rectal de 41,4° C. El aislamiento se realizó a partir del nódulo pulmonar.	7
G	SP	Presente		Positiva	*Datos completos en la siguiente tabla.	4, 7, y 12
H	SP	Presente		Positiva	En 2017, se monitorizó en matadero y se encontraron lesiones nodulares, que fueron positivas en el examen microbiológico.	7
I	SP	Ausente		Negativa		
J	PR	Ausente		Negativa		
K	PR	Ausente		Negativa		
L	MG	Presente		Positiva	En 2018 se monitorizó en matadero y fueron seleccionados 5 pulmones con presencia de nódulos hemorrágicos.	

		<p>Pulmones 1 y 3: Aislamiento positivo realizado a partir de nódulo pulmonar. Aislamiento concurrente de <i>Streptococcus suis</i> de saco pericárdico de un animal. Aislamiento concurrente de <i>Pasteurella multocida</i> A</p> <p>En agosto de 2018 se encontró un animal de 64 días de edad, con dificultad respiratoria y 40,8°C. Se aisló <i>Haemophilus parasuis</i> de bronquio.</p> <p>En enero de 2019 se encontró un animal con 155 días de vida, cianosis en oreja y geta. Se realizó necropsia en granja. Aislamiento de <i>Streptococcus suis</i> de saco pericárdico y <i>Pasteurella multocida</i> A de bronquio.</p> <p>En diciembre de 2019 se realizó una monitorización en matadero y se seleccionaron 4 pulmones con consolidaciones. En todos se aisló <i>Pasteurella multocida</i> A del bronquio.</p>
<p>M MG Presente</p>	<p>Positiva</p>	<p>En febrero de 2015 se identificaron animales con síntomas clínicos y 42 días de edad. Se realizaron necropsias en granja y se aisló <i>Haemophilus parasuis</i> de bronquio.</p> <p>En noviembre de 2015 se identificaron animales con síntomas clínicos respiratorios, con 156 días de edad. Se aisló <i>Pasteurella multocida</i> A del bronquio.</p> <p>Se identificó otro animal de 130 días de edad, dificultad respiratoria y una fiebre de 41,3°C. Se aisló <i>Pasteurella multocida</i> A del bronquio.</p> <p>En febrero de 2016 se identificaron animales con síntomas respiratorios y 64 días de edad. Se aisló <i>Pasteurella multocida</i> A del bronquio.</p> <p>En abril de 2017 se identificaron lechones recién destetados</p>

				con sintomatología respiratoria y 22 días de vida. Se aisló <i>Haemophilus parasuis</i> de bronquio y adherencias pleurales.
N	PR	Ausente	Negativa	
O	SP	Ausente	Negativa	<p>En marzo de 2015 se identificaron animales en cebo con síntomas respiratorios. Se realizó necropsia en granja. Aislamiento de bronquio de <i>Pasteurella multocida</i></p> <p>En abril de 2017 se identificaron animales con más de 90 días de edad y con síntomas respiratorios; con evidente dificultad respiratoria. Se seleccionó un animal y se realizó necropsia en granja. Aislamiento de bronquio de <i>Haemophilus parasuis</i></p>
P	MG	Ausente	Negativa	
Q	MG	Presente	Positiva	15
S	SP	Presente	Positiva	
T	PR	Ausente	Negativa	
U	SC	Ausente	Negativa	

Tabla 22. Identificación de serotipos en la granja G

Año	Aislamiento	Procedencia aislamiento	Observaciones	Serotipo
2017	1	Matadero	Se seleccionaron 5 pulmones en la primera y 4 pulmones en cada una de las otras tres, con nódulos hemorrágicos en la línea de inspección. Fueron separados y enviados para diagnóstico microbiológico. Se realizó un aislamiento positivo del nódulo pulmonar y el bronquio.	7
	2	Matadero	Se seleccionaron 4 pulmones en línea de inspección, con nódulos hemorrágicos. se realizó un aislamiento positivo del nódulo pulmonar y el bronquio. Se realizó un aislamiento positivo del nódulo pulmonar y el bronquio. Se realizó un aislamiento positivo del nódulo pulmonar y el bronquio.	7
	3	Matadero	Se seleccionaron 4 pulmones en línea de inspección, con nódulos hemorrágicos. Se realizó un aislamiento positivo del nódulo pulmonar y el bronquio. Se realizó un aislamiento positivo del nódulo pulmonar y el bronquio.	7
	4	Matadero	Se seleccionaron 4 pulmones en línea de inspección, con nódulos hemorrágicos. se realizó un aislamiento positivo del nódulo pulmonar y el bronquio. Se realizó un aislamiento positivo del nódulo pulmonar y el bronquio.	7
2018	5	Granja	En 2018, se identificaron animales con signos clínicos respiratorios. Se seleccionó un animal con síntomas y se confirmó del agente, aislado del nódulo pulmonar. Se realizó un aislamiento positivo del nódulo pulmonar.	7
	6	Granja	En 2018, se identificaron animales con signos clínicos respiratorios. Se seleccionó un animal con síntomas y se confirmó del agente, aislado del nódulo pulmonar. Se realizó un aislamiento positivo del nódulo pulmonar.	7

	7	Granja	En 2018, un animal de 69 días fue identificado con signos clínicos respiratorios, disnea y fiebre de 42° C. <i>Actinobacillus pleuropneumoniae</i> , se aisló a partir del lóbulo pulmonar y líquido torácico.	7
	8	Granja	En 2018, un animal de 69 días fue identificado con signos clínicos respiratorios, disnea y fiebre de 40,5° C. <i>Actinobacillus pleuropneumoniae</i> , se aisló a partir del nódulo pulmonar y lóbulo pulmonar.	7 y 12
	9	Granja	En 2018, un animal de 138 días fue identificado con signos clínicos respiratorios, disnea y fiebre de 41,7° C. <i>Actinobacillus pleuropneumoniae</i> , se aisló a partir del lóbulo pulmonar y líquido torácico.	7
	10	Granja	En 2018, un animal de 91 días fue identificado con signos clínicos respiratorios, disnea y fiebre de 40,5° C. <i>Actinobacillus pleuropneumoniae</i> , se aisló a partir del lóbulo pulmonar.	7
	11	Granja	En 2018, un animal de 91 días fue identificado con signos clínicos respiratorios y disnea. <i>Actinobacillus pleuropneumoniae</i> , se aisló a partir del lóbulo pulmonar.	7
	12	Granja	En 2018, un animal de 112 días fue identificado con signos clínicos respiratorios y disnea. <i>Actinobacillus pleuropneumoniae</i> , se aisló a partir del lóbulo pulmonar.	7
2019	13	Granja	En 2019, se identificó un animal de 94 días con signos clínicos respiratorios, disnea. <i>Actinobacillus pleuropneumoniae</i> , se aisló del nódulo y el lóbulo pulmonar (bronquios).	4 y 7
	14	Granja	En 2019, se identificó un animal de 94 días con signos clínicos respiratorios, disnea. <i>Actinobacillus pleuropneumoniae</i> , se aisló del nódulo y el lóbulo pulmonar (bronquios).	4 y 7
	15	Granja	En 2019, se identificó un animal de 94 días con signos clínicos	4 y 7

			respiratorios, disnea. <i>Actinobacillus pleuropneumoniae</i> , se aisló del nódulo y el lóbulo pulmonar (bronquios).	
	16	Granja	En 2019, se identificó un animal de 99 días con signos clínicos respiratorios, disnea. <i>Actinobacillus pleuropneumoniae</i> , se aisló del nódulo y el lóbulo pulmonar (bronquios).	4 y 7
	17		En 2019, se identificó un animal de 99 días con signos clínicos respiratorios, disnea. <i>Actinobacillus pleuropneumoniae</i> , se aisló del nódulo y el lóbulo pulmonar (bronquios).	4 y 7

De las 8 granjas positivas, se consiguió un tipado individual en 6 de ellas (75%) mediante PCR en tiempo real. En una de ellas no se pudo tipar y la otra se encontró una cepa no tipable.

La granja G fue la que más aislamientos se realizaron a lo largo del estudio, dado que fue la elegida para estudiar la evolución de la presencia de cepas. Se enviaron 17 muestras para la identificación del patógeno y su serotipado. En esta granja se encontraron hasta 3 serotipos diferentes. El más frecuente fue el serotipo 7, que se encontró en exclusiva en 11 de las muestras (64,7%) y en combinación con otro serotipo en el 100% de las muestras. El serotipo 4 se encontró en 5 muestras (29,31%) y el serotipo 12 en una muestra (5,88%). El serotipo 12 se identificó en el año 2018 y el serotipo 4 el año 2019. La introducción de nuevas cepas suele producirse al incorporar nuevos animales al colectivo. La granja G, tuvo una tasa de reposición superior al 50% durante todo el periodo de estudio, aunque introdujo animales siempre del mismo origen. Sin embargo, también se ha demostrado la transmisión aerógena entre granjas y de hecho Zhuang et al. (2007) sugiere que esta vía de transmisión está implicada en la mayoría de las infecciones de granjas SPF en Dinamarca, ya que aunque se ha podido demostrar transmisiones de pocos metros, ya se habían reconocido infecciones a larga distancia, incluso de kilómetros (Desrosiers & Moore, 1998). Por tanto, no podemos descartar una infección procedente de otra granja adyacente. Además, esta explotación es una unidad en ciclo cerrado, lo que finalmente facilitará la diseminación de cualquier patógeno. Esto supondría un riesgo añadido para la entrada y diseminación de nuevos serotipos de la bacteria.

Se ha demostrado que las granjas convencionales pueden estar infectadas por varios serotipos distintos de la bacteria (Gottschalk et al, 2003a), y se evidencia en que en la granja G se han detectado 3 serotipos distintos a lo largo del tiempo.

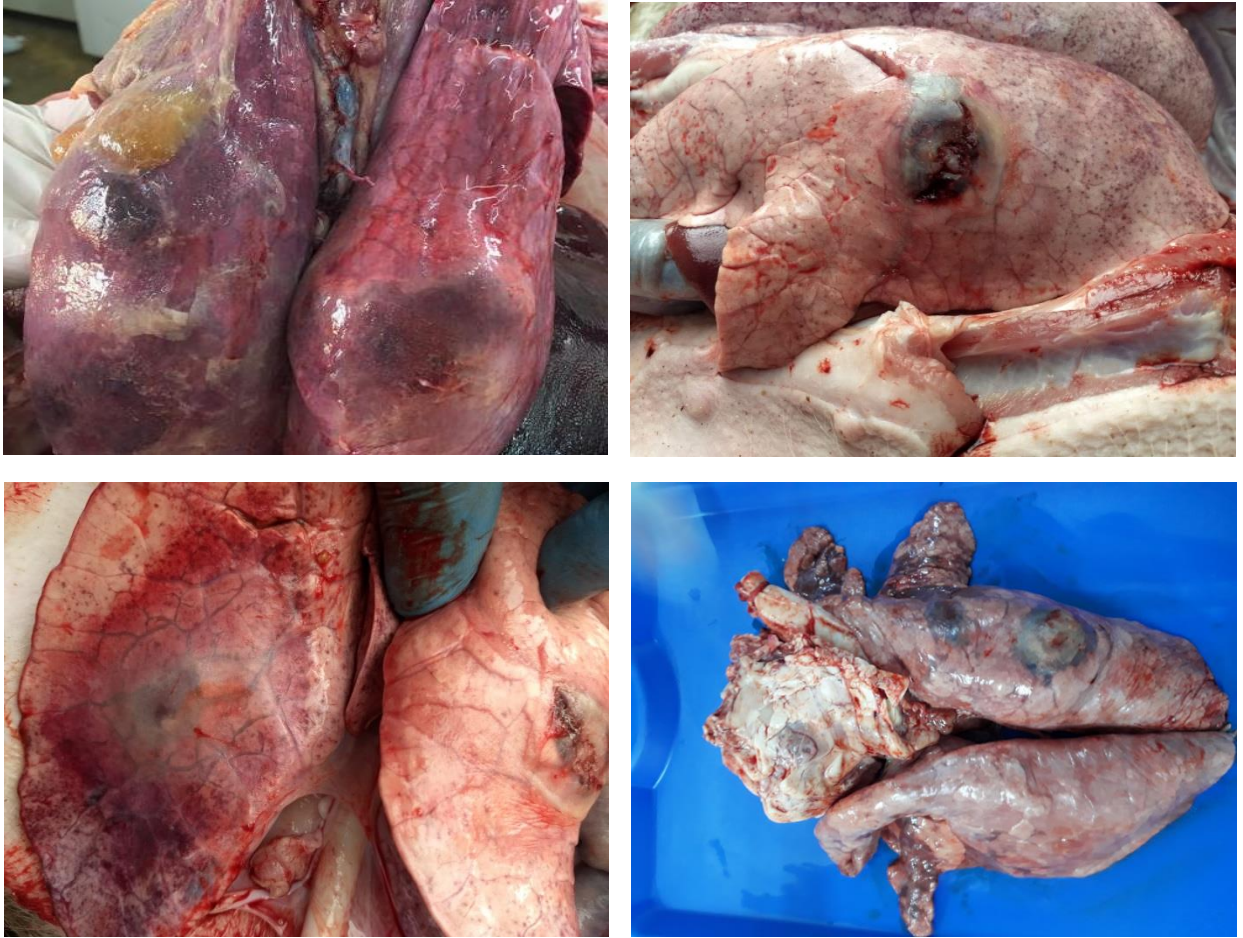


Figura 16. Pulmones tomados como muestra para el aislamiento de *A. pleuropneumoniae* en matadero, procedentes de la granja G

4.4. Resultados del perfil de sensibilidad a los antimicrobianos

Los resultados obtenidos para la sensibilidad a antibióticos aparecen en la siguiente tabla:

Tabla 23. Resultados de sensibilidad a los antibióticos ensayados en las cepas aisladas.

Antimicrobianos	Sensibilidad	Resistente	Intermediario
Amoxicilina	30,43	39,13	30,43
Ceftiofour	100,00	0,00	0,00
Doxicilina	59,09	36,36	4,55
Enrofloxacina	64,00	32,00	4,00
Gamitromicina	100,00	0,00	0,00
Florfenicol	100,00	0,00	0,00
Lincomic. + Espectinomic.	100,00	0,00	0,00
Marbofloxacina	100,00	0,00	0,00
Norfloxacina	100,00	0,00	0,00
Oxitetraciclina	0,00	91,67	8,33
Penicilina	8,70	91,30	0,00
Tetraciclina	28,57	28,57	42,86
Tilmicosina	100,00	0,00	0,00
Tulatromicina	100,00	0,00	0,00

Todas las cepas fueron sensibles frente a ceftiofour, gamitromicina, florfenicol, lincomicina+ espectinomicina, marboflaxacina, norfloxacina, tilmicosina y tulatromicina. Por el contrario, el 91,67 de las cepas fue resistente a la oxitetraciclina, el 91,30 a la penicilina, el 39,13% a la amoxicilina y el 28,57 a la tetraciclina. El 42,86% de las cepas se mostró indiferente frente a la tetraciclina, el 30,43% a la amoxicilina, el 8,33% a la oxitetraciclina y el 4,55 y el 4% frente a la doxiciclina y enrofloxacina, respectivamente. Seguido de 64% para Enrofloxacina, 59,09% para Doxiciclina, 30,43% de Amoxicilina, 28,57 para Tetraciclina y 8,7% para Penicilina.

Vanni et al. (2012) han demostrado un incremento significativo de resistencias de distintos serotipos de *App* frente a varios antibióticos en Italia. Así, entre 1994 y 2009 observan un incremento desde el 11% hasta el 82,6% para la amoxicilina, para doxiciclina encuentran frecuencia de resistencias entre el 25% y el 54% aunque en este caso se ha producido una disminución a lo largo del tiempo. Igualmente, la penicilina muestra resistencias entre el 10% a finales de los 90 hasta más del 84% en el año 2008. Estos autores no han testado oxitetraciclina, pero sí tetraciclina que presentó hasta un 69% de las cepas resistentes. Los autores encuentran niveles muy bajos de resistencia frente a florfenicol, marbofloxacin, tilmicosina o tulatromicina, lo que concuerda con los hallazgos de este trabajo. En Australia se han encontrado al menos una resistencia en el 93% de cepas aisladas durante el periodo 2002-2013 (Dayao et al., 2014). Los autores describen siete patrones de resistencia combinada; eritromicina-tetraciclina, eritromicina-tetraciclina-tilmicosina, eritromicina, ampicilina-eritromicina-penicilina-tetraciclina-tilmicosina, tetraciclina, ampicilina-eritromicina-penicilina-tetraciclina. Al igual que en nuestro estudio, todas las cepas fueron sensibles a tulatromicina, ceftiofur y florfenicol. Del mismo modo, Zucero et al. (2011) encontraron en la República Checa resistencias en el 28,5% de cepas aisladas durante 2007-2009 en granjas, cifra baja comparada con nuestros hallazgos y la mayoría de la literatura. Los autores describen. El antibiótico con mayor número de resistencias fue la tetraciclina (76,8%), lo que coincide con los hallazgos en España (Gutiérrez-Martín et al., 2006) con un 85,6% de cepas resistentes a este antibiótico. Matter et al., (2007) encuentran resistencias frente a la amoxicilina en el 100% de los aislados que estudian en Suiza entre 2002-2004 y sin embargo solo encuentran resistencia a la tetraciclina en el 8,4% de las cepas, muy por debajo de nuestro estudio y de los datos de España, Australia y República checa, pero muy parecido al 6% documentado por Hendriksen et al. (2008b). En Holanda (Heuvelink et al., 2015) se han encontrado resistencias a tetraciclina (19,1%), tilmicosina (14,1%) y tiamulina (30%), y es de notar que la tilmicosina prácticamente no muestra resistencias en ningún estudio.

Para interpretar estas resistencias, vamos a tener en cuenta la guía de uso prudente de antibióticos publicada por Burch et al. (2008), donde se recogen tratamientos de primera indicación (penicilina), segunda indicación (florfenicol, tulatromicina,

tetraciclina y cotrimoxazol) o de última indicación (amoxicilina, cefalosporina, fluoroquinolonas y tilmicosina). Interesantemente, todas las cepas aisladas en nuestro estudio son resistentes o indiferentes a la primera indicación, al igual que la tetraciclina que solo funciona en un 28% de las cepas aisladas.

El nivel de resistencias frente a penicilina o doxiciclina probablemente se expliquen porque han sido ampliamente utilizados –y lo siguen siendo- en el tratamiento de enfermedades respiratorias, y en este estudio se aprecian claramente diferenciadas las resistencias a “antibióticos viejos”, en contraste con la ausencia de éstas frente a “antibióticos nuevos”. Un dato casi constante en todos los estudios es la ausencia de resistencias a los antibióticos de última generación (Priebe y Schwartz, 2004; Gutiérrez-Martín et al., 2006; Matter et al., 2007, Vanni et al. 2012), aunque Kucerova describe resistencias a florfenicol en el 1,2% de las cepas que estudia debido a la presencia de un gen específico; *florR*. La presencia de un plásmido que vehicula este gen de resistencia, el p518, ha sido descrito recientemente en Brasil (da Silva et al., 2017) y se trataría del primer reporte de este gen de resistencia en Sudamérica. Esto soporta la idea de que las resistencias a florfenicol no son muy frecuentes hasta el momento.

En contraposición, en cepas de *A. pleuropneumoniae* aisladas en toda la Unión Europea (Bélgica 23 aislados, Dinamarca 23 aislados, Francia 20 aislados, Alemania, 21 aislados, Holanda 13 aislados, Polonia 23 aislados, España 23 aislados y Reino Unido 11 aislados), se ha documentado una baja tasa de resistencias a antibióticos excepto para tetraciclina, frente a la que fueron resistentes el 23,6% de las mismas (El Garch et al., 2016). Esta cifra es muy cercana a la encontrada en las granjas incluidas en este estudio. Pero el nivel tan bajo de resistencias contrasta con las informaciones de otros artículos en estos países.

La baja tasa de resistencias frente a macrólidos y aminoglucósidos se podría explicar por la poca eficiencia que muestran estos antibióticos frente a *A. pleuropneumoniae* (Gutierrez-Marin et al., 2006; Matter et al, 2007; Vanni et al., 2012), lo que hace que estos grupos de antibióticos no se usen de forma masiva frente a este patógenos.

4.4.1 Número de resistencias simultáneas por serotipos

Finalmente se analizaron 38 cepas aisladas a las que se les hizo un antibiograma.

Se encontraron diferencias significativas ($p < 0,001$) en el número de resistencias cuando se analizaron por serotipo. La tabla 13 muestra las frecuencias observadas y el análisis posterior de residuos corregidos.

Tabla 24. Frecuencia del número de resistencias simultáneas por serotipo

			Resistencias					Total
			0	1	2	3	4	
serotipo 4	Recuento		0	0	1	5	0	6
	% de serotipo		,0%	,0%	16,7%	83,3%	,0%	100,0%
	% de resistencias		,0%	,0%	5,3%	35,7%	,0%	15,8%
	% del total		,0%	,0%	2,6%	13,2%	,0%	15,8%
	Residuos corregidos		-,4	-,4	-1,8	2,6	-,8	
5	Recuento		1	0	0	0	0	1
	% de serotipo		100,0%	,0%	,0%	,0%	,0%	100,0%
	% de resistencias		100,0%	,0%	,0%	,0%	,0%	2,6%
	% del total		2,6%	,0%	,0%	,0%	,0%	2,6%
	Residuos corregidos		6,2	-,2	-1,0	-,8	-,3	
7	Recuento		0	1	16	8	2	27
	% de serotipo		,0%	3,7%	59,3%	29,6%	7,4%	100,0%
	% de resistencias		,0%	100,0%	84,2%	57,1%	66,7%	71,1%
	% del total		,0%	2,6%	42,1%	21,1%	5,3%	71,1%
	Residuos corregidos		-1,6	,6	1,8	-1,4	-,2	
12	Recuento		0	0	0	1	1	2
	% de serotipo		,0%	,0%	,0%	50,0%	50,0%	100,0%
	% de resistencias		,0%	,0%	,0%	7,1%	33,3%	5,3%
	% del total		,0%	,0%	,0%	2,6%	2,6%	5,3%
	Residuos corregidos		-,2	-,2	-1,5	,4	2,3	
15	Recuento		0	0	2	0	0	2
	% de serotipo		,0%	,0%	100,0%	,0%	,0%	100,0%
	% de resistencias		,0%	,0%	10,5%	,0%	,0%	5,3%
	% del total		,0%	,0%	5,3%	,0%	,0%	5,3%
	Residuos corregidos		-,2	-,2	1,5	-1,1	-,4	
Total	Recuento		1	1	19	14	3	38
	% de serotipo		2,6%	2,6%	50,0%	36,8%	7,9%	100,0%
	% de resistencias		100,0%	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%
	% del total		2,6%	2,6%	50,0%	36,8%	7,9%	100,0%

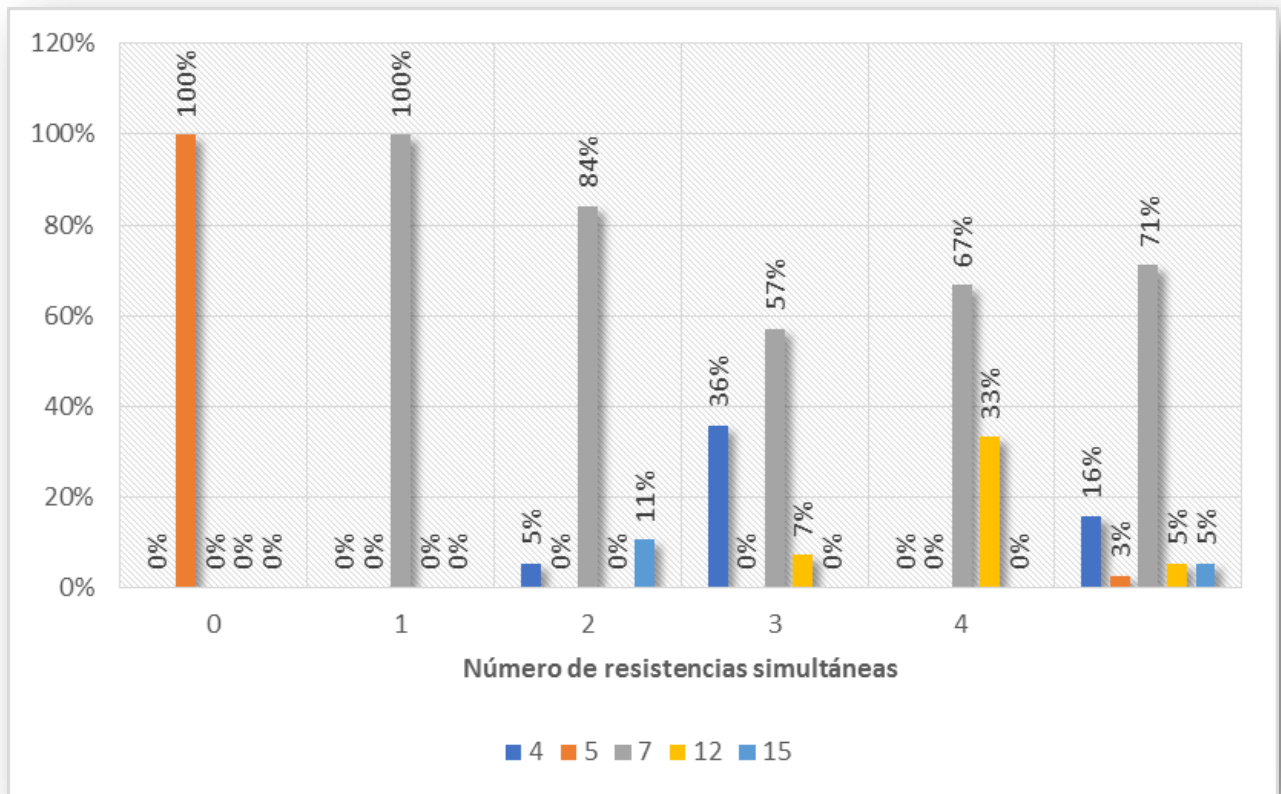


Figura 17. Número de resistencias simultáneas por serotipo

El serotipo 5 no presentó ninguna resistencia, lo que hace que la frecuencia observada sea muy superior a la esperada en la categoría 0 resistencias ($p < 0,001$). En el otro extremo se encuentra la cepa del serotipo 12, con una cepa con 3 resistencia y otra con 4 resistencias; lo que significa –en el último caso- una frecuencia observada superior a la esperada ($p < 0,001$).

No hubo diferencias ($p=0,503$) en el número de antibióticos indiferentes al comparar las frecuencias observadas con las esperadas.

Tabla 25. Frecuencia del número de indiferencias simultáneas por serotipo

			INDIFERENCIAS					Total
			0	1	2	3	4	
serotipo 4	Recuento		0	3	2	1	0	6
	% de serotipo		,0%	50,0%	33,3%	16,7%	,0%	100,0%
	% de INDIFERENCIAS		,0%	30,0%	20,0%	16,7%	,0%	15,8%
	% del total		,0%	7,9%	5,3%	2,6%	,0%	15,8%
	Residuos corregidos		-1,6	1,4	,4	,1	-,6	
5	Recuento		0	1	0	0	0	1
	% de serotipo		,0%	100,0%	,0%	,0%	,0%	100,0%
	% de INDIFERENCIAS		,0%	10,0%	,0%	,0%	,0%	2,6%
	% del total		,0%	2,6%	,0%	,0%	,0%	2,6%
	Residuos corregidos		-,6	1,7	-,6	-,4	-,2	
7	Recuento		8	6	7	4	2	27
	% de serotipo		29,6%	22,2%	25,9%	14,8%	7,4%	100,0%
	% de INDIFERENCIAS		80,0%	60,0%	70,0%	66,7%	100,0%	71,1%
	% del total		21,1%	15,8%	18,4%	10,5%	5,3%	71,1%
	Residuos corregidos		,7	-,9	-,1	-,3	,9	
12	Recuento		0	0	1	1	0	2
	% de serotipo		,0%	,0%	50,0%	50,0%	,0%	100,0%
	% de INDIFERENCIAS		,0%	,0%	10,0%	16,7%	,0%	5,3%
	% del total		,0%	,0%	2,6%	2,6%	,0%	5,3%
	Residuos corregidos		-,9	-,9	,8	1,4	-,3	
15	Recuento		2	0	0	0	0	2
	% de serotipo		100,0%	,0%	,0%	,0%	,0%	100,0%
	% de INDIFERENCIAS		20,0%	,0%	,0%	,0%	,0%	5,3%
	% del total		5,3%	,0%	,0%	,0%	,0%	5,3%
	Residuos corregidos		2,4	-,9	-,9	-,6	-,3	
Total	Recuento		10	10	10	6	2	38
	% de serotipo		26,3%	26,3%	26,3%	15,8%	5,3%	100,0%
	% de INDIFERENCIAS		100,0%	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%
	% del total		26,3%	26,3%	26,3%	15,8%	5,3%	100,0%

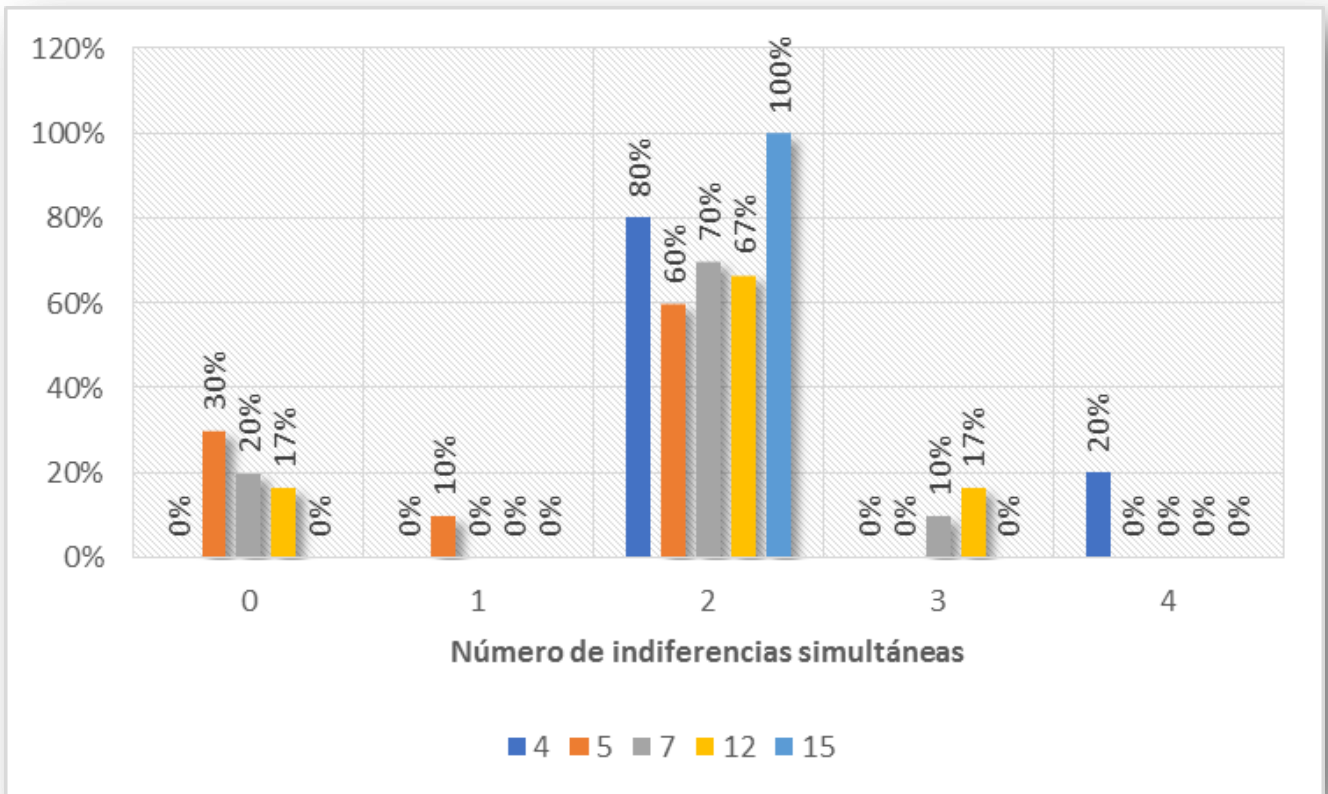


Figura 18. Número de indiferencias simultáneas por serotipo.

La mayoría de las cepas de cada serotipo fue indiferente al menos a dos antibióticos. Sin embargo solo los serotipos 4 y 12 tuvieron 3 y 4 indiferencias.

Cuando se analizan en conjunto las resistencias y las indiferencias, los resultados obtenidos aparecen en la tabla 15.

Tabla 26. Tabla de contingencia para las resistencias e indiferencias en conjunto por serotipo

			Resistencias + indiferencias							Total
			1	2	3	4	5	6	7	1
serotipo 4	Recuento		0	0	0	4	1	1	0	6
	% de serotipo		,0%	,0%	,0%	66,7%	16,7%	16,7%	,0%	100,0%
	% de res_ind		,0%	,0%	,0%	28,6%	25,0%	14,3%	,0%	15,8%
	% del total		,0%	,0%	,0%	10,5%	2,6%	2,6%	,0%	15,8%
	Residuos corregidos		-6	-1,4	-6	1,7	,5	-,1	-,4	
5	Recuento		1	0	0	0	0	0	0	1
	% de serotipo		100,0%	,0%	,0%	,0%	,0%	,0%	,0%	100,0%
	% de res_ind		50,0%	,0%	,0%	,0%	,0%	,0%	,0%	2,6%
	% del total		2,6%	,0%	,0%	,0%	,0%	,0%	,0%	2,6%
	Residuos corregidos		4,3	-,5	-,2	-,8	-,3	-,5	-,2	
7	Recuento		1	6	2	10	3	4	1	27
	% de serotipo		3,7%	22,2%	7,4%	37,0%	11,1%	14,8%	3,7%	100,0%
	% de res_ind		50,0%	75,0%	100,0%	71,4%	75,0%	57,1%	100,0%	71,1%
	% del total		2,6%	15,8%	5,3%	26,3%	7,9%	10,5%	2,6%	71,1%
	Residuos corregidos		-,7	,3	,9	,0	,2	-,9	,6	
12	Recuento		0	0	0	0	0	2	0	2
	% de serotipo		,0%	,0%	,0%	,0%	,0%	100,0%	,0%	100,0%
	% de res_ind		,0%	,0%	,0%	,0%	,0%	28,6%	,0%	5,3%
	% del total		,0%	,0%	,0%	,0%	,0%	5,3%	,0%	5,3%
	Residuos corregidos		-,3	-,8	-,3	-1,1	-,5	3,1	-,2	
15	Recuento		0	2	0	0	0	0	0	2
	% de serotipo		,0%	100,0%	,0%	,0%	,0%	,0%	,0%	100,0%
	% de res_ind		,0%	25,0%	,0%	,0%	,0%	,0%	,0%	5,3%
	% del total		,0%	5,3%	,0%	,0%	,0%	,0%	,0%	5,3%
	Residuos corregidos		-,3	2,8	-,3	-1,1	-,5	-,7	-,2	
Total	Recuento		2	8	2	14	4	7	1	38
	% de serotipo		5,3%	21,1%	5,3%	36,8%	10,5%	18,4%	2,6%	100,0%
	% de res_ind		100,0%	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%
	% del total		5,3%	21,1%	5,3%	36,8%	10,5%	18,4%	2,6%	100,0%

Se observó una mayor frecuencia observada que la esperada ($p=0,029$) en la categoría 4 resistencias e indiferencias en el serotipo 4 y más en la categoría 1 del serotipo 5, pero de nuevo hay que notar que solo hay un aislado de este serotipo.

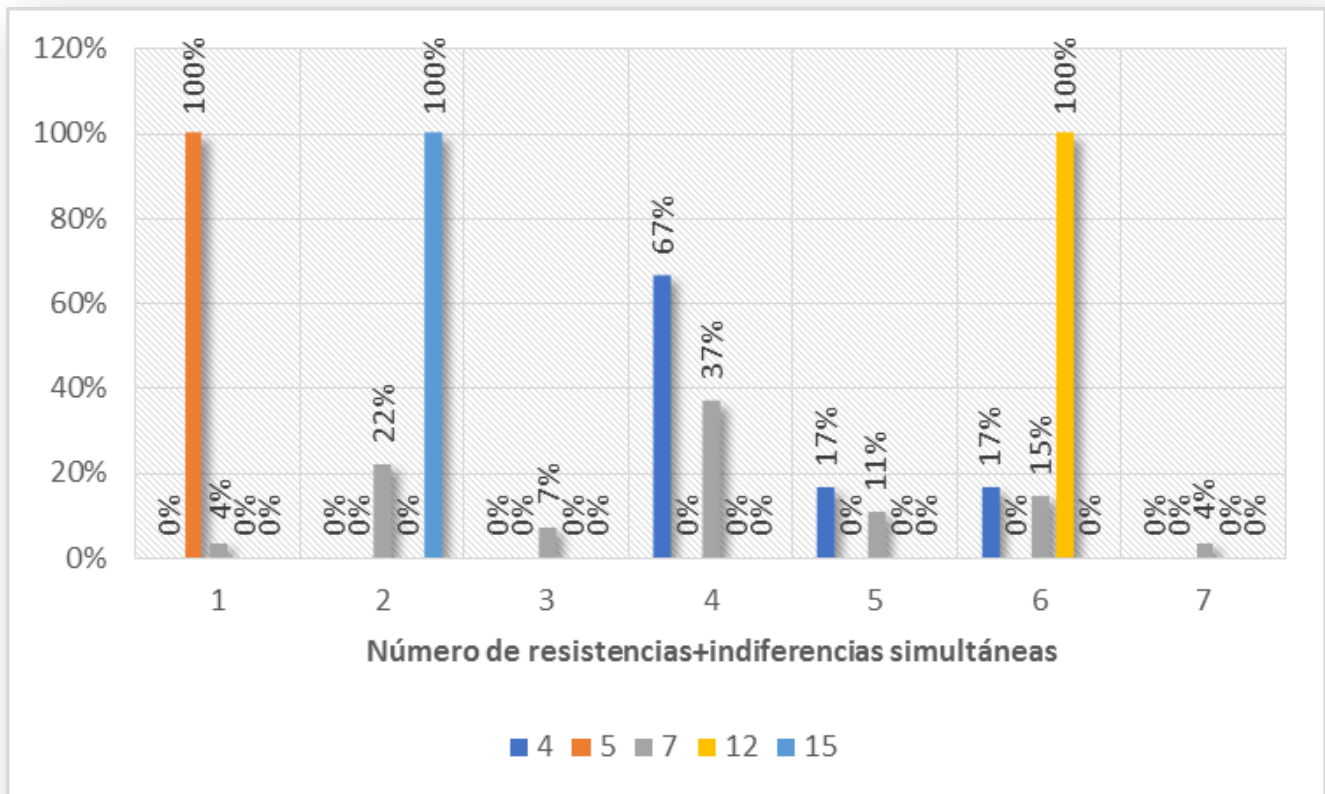


Figura 19. Número de resistencias+indiferencias por serotipo

De nuevo la cepa del serotipo 5 hallada, mostró solo una indiferencias, mientras que en el extremo opuesto, todas las cepas del serotipo 12 tuvieron 6 resistencias+indiferencias y una cepa del serotipo 7 tuvo 7.

4.4.2 Resistencias por serotipos y antibiótico

Todas las cepas fueron sensibles a ceftiofour, florfenicol, lincomicina+espectinomicina, marbofloxacina, norfloxacina, tilmicosina y tulatromicina, por lo que no se han incluido en este análisis. Y no se mostrarán los resultados para enrofloxacina, oxitetraciclina y tetraciclina por no ser estadísticamente significativos. Destacar que en estos dos últimos antibióticos, prácticamente no hay ninguna cepa sensible.

4.4.2.1 Amoxicilina

La tabla 16 muestra las frecuencias observadas y el análisis de residuos corregidos de las resistencias para la amoxicilina por serotipo.

Tabla 27. Tabla de contingencia con análisis de residuos corregidos para las resistencias a amoxicilina por serotipo.

serotipo			Amoxicilina			Total
			SENSIBLE	RESISTENTE	INDIFERENTE	
4	Recuento	0	6	0	6	
	% de serotipo	,0%	100,0%	,0%	100,0%	
	% de Amoxicilina	,0%	26,1%	,0%	15,8%	
	Residuos corregidos	-1,4	2,2	-1,3		
5	Recuento	1	0	0	1	
	% de serotipo	100,0%	,0%	,0%	100,0%	
	% de Amoxicilina	12,5%	,0%	,0%	2,6%	
	Residuos corregidos	2,0	-1,3	-,5		
7	Recuento	5	17	5	27	
	% de serotipo	18,5%	63,0%	18,5%	100,0%	
	% de Amoxicilina	62,5%	73,9%	71,4%	71,1%	
	Residuos corregidos	-,6	,5	,0		
12	Recuento	0	0	2	2	
	% de serotipo	,0%	,0%	100,0%	100,0%	
	% de Amoxicilina	,0%	,0%	28,6%	5,3%	
	Residuos corregidos	-,8	-1,8	3,1		
15	Recuento	2	0	0	2	
	% de serotipo	100,0%	,0%	,0%	100,0%	
	% de Amoxicilina	25,0%	,0%	,0%	5,3%	
	Residuos corregidos	2,8	-1,8	-,7		
Total	Recuento	8	23	7	38	
	% de serotipo	21,1%	60,5%	18,4%	100,0%	
	% de Amoxicilina	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%	

Se observaron diferencias significativas ($p=0,002$) entre las frecuencias observadas y esperadas para las cepas resistentes del serotipo 4 ($RC=2,2$), frecuencia mayor de la esperada en las cepas sensibles del serotipo 5 ($RC=2$), superior en cepas sensibles del serotipo 15 ($RC=2,8$) y superior en cepas indiferentes en el serotipo 12 ($RC=3,1$). En este caso, el serotipo 5, al contar con un solo aislado no debe tenerse en cuenta.

4.4.2.2 Doxiciclina

La tabla 17 muestra las frecuencias observadas y el análisis de residuos corregidos de las resistencias para la doxiciclina por serotipo.

Tabla 28. Tabla de contingencia con análisis de residuos corregidos para las resistencias a doxiciclina por serotipo.

serotipo		Doxiciclina			Total
		SENSIBLE	RESISTENTE	INDIFERENTE	
4	Recuento	0	4	2	6
	% de serotipo	,0%	66,7%	33,3%	100,0%
	% de Doxiciclina	,0%	26,7%	22,2%	15,8%
	Residuos corregidos	-2,0	1,5	,6	
5	Recuento	1	0	0	1
	% de serotipo	100,0%	,0%	,0%	100,0%
	% de Doxiciclina	7,1%	,0%	,0%	2,6%
	Residuos corregidos	1,3	-,8	-,6	
7	Recuento	11	9	7	27
	% de serotipo	40,7%	33,3%	25,9%	100,0%
	% de Doxiciclina	78,6%	60,0%	77,8%	71,1%
	Residuos corregidos	,8	-1,2	,5	
12	Recuento	0	2	0	2
	% de serotipo	,0%	100,0%	,0%	100,0%
	% de Doxiciclina	,0%	13,3%	,0%	5,3%
	Residuos corregidos	-1,1	1,8	-,8	
15	Recuento	2	0	0	2
	% de serotipo	100,0%	,0%	,0%	100,0%
	% de Doxiciclina	14,3%	,0%	,0%	5,3%
	Residuos corregidos	1,9	-1,2	-,8	
Total	Recuento	14	15	9	38
	% de serotipo	36,8%	39,5%	23,7%	100,0%
	% de Doxiciclina	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%

Aunque no hubo diferencias en las frecuencias observadas con respecto a las esperadas en ninguno de los serotipos ($p=0,142$), si se obtuvo significancia en la razón de verosimilitud de Chi cuadrado ($p=0,047$). Se observaron frecuencias menores de la esperada en las cepas sensibles del serotipo 4 ($RC=-2$).

4.4.2.3 Penicilina

La tabla 18 muestra las frecuencias observadas y el análisis de residuos corregidos de las resistencias para la doxiciclina por serotipo.

Tabla 29. Tabla de contingencia con análisis de residuos corregidos para las resistencias a penicilina por serotipo.

			Penicilina			Total
			SENSIBLE	RESISTENTE	INDIFERENTE	
serotipo 4	Recuento		0	3	3	6
	% de serotipo		,0%	50,0%	50,0%	100,0%
	% de Penicilina		,0%	10,3%	50,0%	15,8%
	Residuos corregidos		-,8	-1,7	2,5	
5	Recuento		1	0	0	1
	% de serotipo		100,0%	,0%	,0%	100,0%
	% de Penicilina		33,3%	,0%	,0%	2,6%
	Residuos corregidos		3,5	-1,8	-,4	
7	Recuento		0	24	3	27
	% de serotipo		,0%	88,9%	11,1%	100,0%
	% de Penicilina		,0%	82,8%	50,0%	71,1%
	Residuos corregidos		-2,8	2,9	-1,2	
12	Recuento		0	2	0	2
	% de serotipo		,0%	100,0%	,0%	100,0%
	% de Penicilina		,0%	6,9%	,0%	5,3%
	Residuos corregidos		-,4	,8	-,6	
15	Recuento		2	0	0	2
	% de serotipo		100,0%	,0%	,0%	100,0%
	% de Penicilina		66,7%	,0%	,0%	5,3%
	Residuos corregidos		5,0	-2,6	-,6	
Total	Recuento		3	29	6	38
	% de serotipo		7,9%	76,3%	15,8%	100,0%
	% de Penicilina		100,0%	100,0%	100,0%	100,0%

Se observan frecuencias encontradas distintas de las esperadas ($p<0,001$), mayor que la esperada en las cepas indiferentes del serotipo 4 ($RC=2,5$), mayor que la esperada en cepas sensibles del serotipo 4 ($RC=3,5$), mayor de la esperada en cepas resistentes en

el serotipo 12 (RC=2,9) y mayor que la esperada en cepas sensibles (RC=5) y menor que la esperada en cepas resistentes (RC=-2,6) en el serotipo 15.

4.4.3 Patrones de resistencias por serotipos

Los patrones, número de cepas y serotipos encontrados aparecen en la tabla 19

Tabla 30. Patrones de resistencias en las cepas estudiadas

Patrón	N	%	Serotipo
Pen	1	2,70	7
AmoxPen	9	24,32	7
AmoxDox	2	5,41	4 y 7
DoxPen	1	2,70	7
OxiPen	5	13,51	7
OxiTet	2	5,41	15
AmoDoxPen	6	16,22	4 y 7
AmoDoxTet	3	8,11	4 y 7
AmoPenTet	2	5,41	7
DoxOxiPen	2	5,41	7 y 12
AmoDoxPenTet	1	2,70	7

El patrón de resistencia múltiple más común fue AmoxPen (24,32%, seguido de AmoDoxPen (16,22%) y OxiPen (13,51%). Con respecto a las resistencias frente a los β -lactámicos puede producirse por la secreción de betalactamasas, la modificación dla diana y mediante alteraciones de la permeabilidad y bombas de expulsión (Suarez y Gudiol, 2009), siendo las más importante la producción de betalactamasas (Rodríguez et al., 2009). Se han descrito varios genes que codifican betalactamasas y que se han encontrado en *A. pleuropneumoniae*, *P. multocida* o *H. parasuis*. Algunos ejemplos son los genes *bla*_{ROB-1} o *bla*_{TEM} que se encuentra con frecuencia en aislados con resistencias a ampicilina y penicilina. De hecho, el gen *bla*_{ROB-1} se ha encontrado en App (Matter et al., 2007)

En el caso de las tetraciclinas, se han escrito varios genes que confieren resistencia a este grupo de antibióticos como *tetA*, *tetB*, *tetC*, *tetD*, *tetE*, *tetH*, *tetL*, *tetM* y *tetO*, todos ellos capaces de producir resistencia a tetraciclina, y que son responsables de una bomba de expulsión (B, C y H) y de proteínas protectoras de los ribosomas (L y O) se han descrito previamente en *A. pleuropneumoniae* (Matter et al., 2007). El gen *tetB* se encontró en la mayoría de aislados de *App* y *H. parasuis* resistentes a tetraciclina en Australia (Lancashire et al., 2005; Dayao et al., 2014).

La razón de las multiresistencias se explica por la coexistencia de algunos de estos genes en el mismo patógeno. Así, se han descrito cepas con la presencia concomitante *bla_{ROB-1}* y *tetB* lo que explicaría la resistencia común a β -lactámicos y tetraciclinas (Dayao et al., 2014a, Dayao et al, 2014b), como ocurre en la mayoría de las cepas estudiadas en este trabajo. La misma situación de multiresistencias combinadas a estos dos grupos de antibióticos ha sido descrito en Corea del Sur (Kim et al., 2016).

4.4.5. Evolución de las resistencias en la granja G

La mediana de resistencias, indiferencias y resistencias+indiferencias aparecen en el gráfico x.

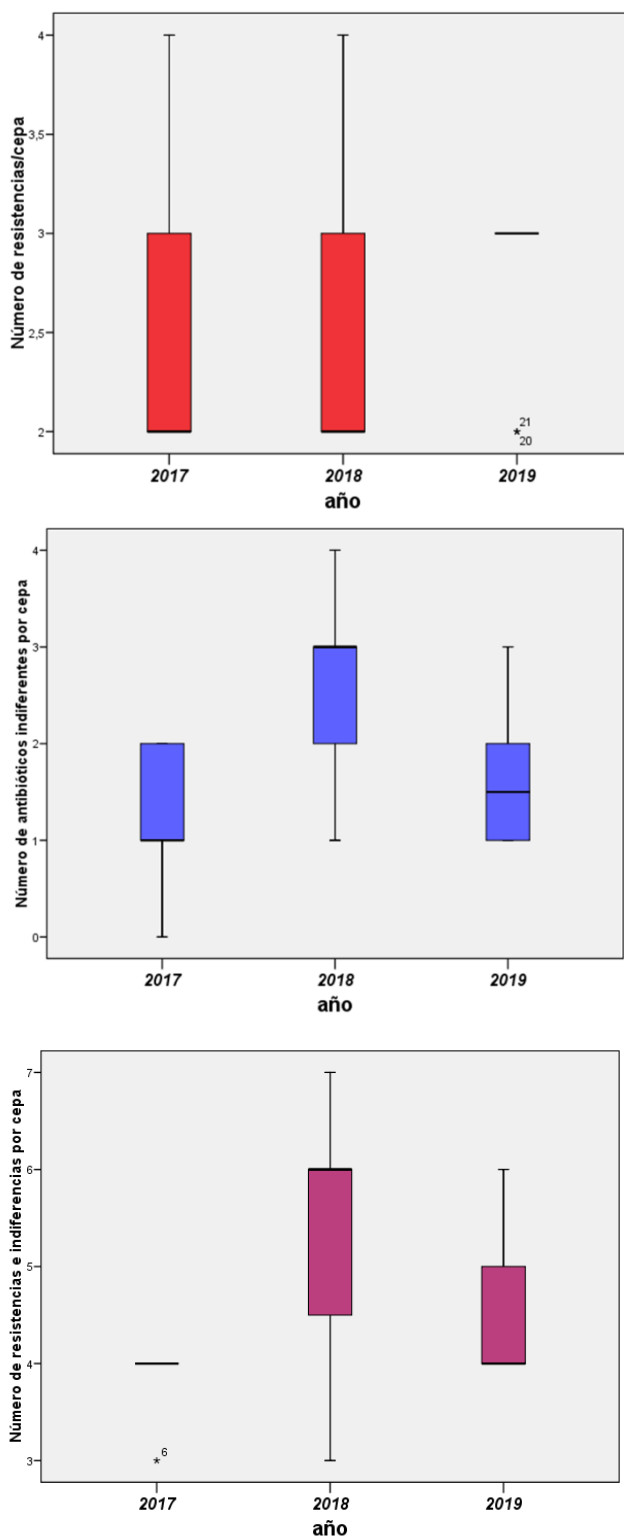


Figura 20. Diagrama de cajas para las resistencias, indiferencias y resistencias +indiferencias simultáneas en una cepa.

Analizando las medianas, no hubo diferencias para el número de resistencias ($p=0,492$), pero si las hubo para las indiferencias ($p=0,013$) y para la suma de indiferencias y resistencias ($p=0,026$). Se obtuvieron diferencias en ambos parámetros al comparar los años 2017-2018 ($p=0,019$ y $p=0,027$, respectivamente) y en el número de indiferencias al comparar los años 2018-2019 ($p=0,23$), pero en este último caso no para la suma de resistencias e indiferencias. No hubo diferencias en ningún parámetro al comparar los años 2017 y 2019.

En el caso de las resistencias, se aprecia como con el tiempo disminuyen el número de cepas con 1 y 2 resistencias, hasta el año 2019 donde todas las cepas estudiadas tienen 3 resistencias. Este incremento de resistencias frente a los antimicrobianos ha sido ampliamente documentado en la literatura (Vanni et al., 2012, Dayao et al., 2014a, Dayao et al, 2014b).

4.5 BAJAS EN TRANSPORTE Y DECOMISOS EN MATADERO RELACIONADOS CON PLEURITIS

La frecuencia de bajas en el transporte, calculado sobre el total de animales llevados al matadero y de decomisos totales o parciales por pleuritis para los años 2017, 2018 y 2019 aparece en la tabla 19. La mayoría de los decomisos correspondían a lesiones como las que se muestran en la Figura x.



Figura 21. Principal motivo de decomiso, compatible con las lesiones producidas por *A. pleuropneumoniae*.

Este tipo de lesiones produce el decomiso parcial o total del costillar, o incluso en algunos mataderos de toda la canal.

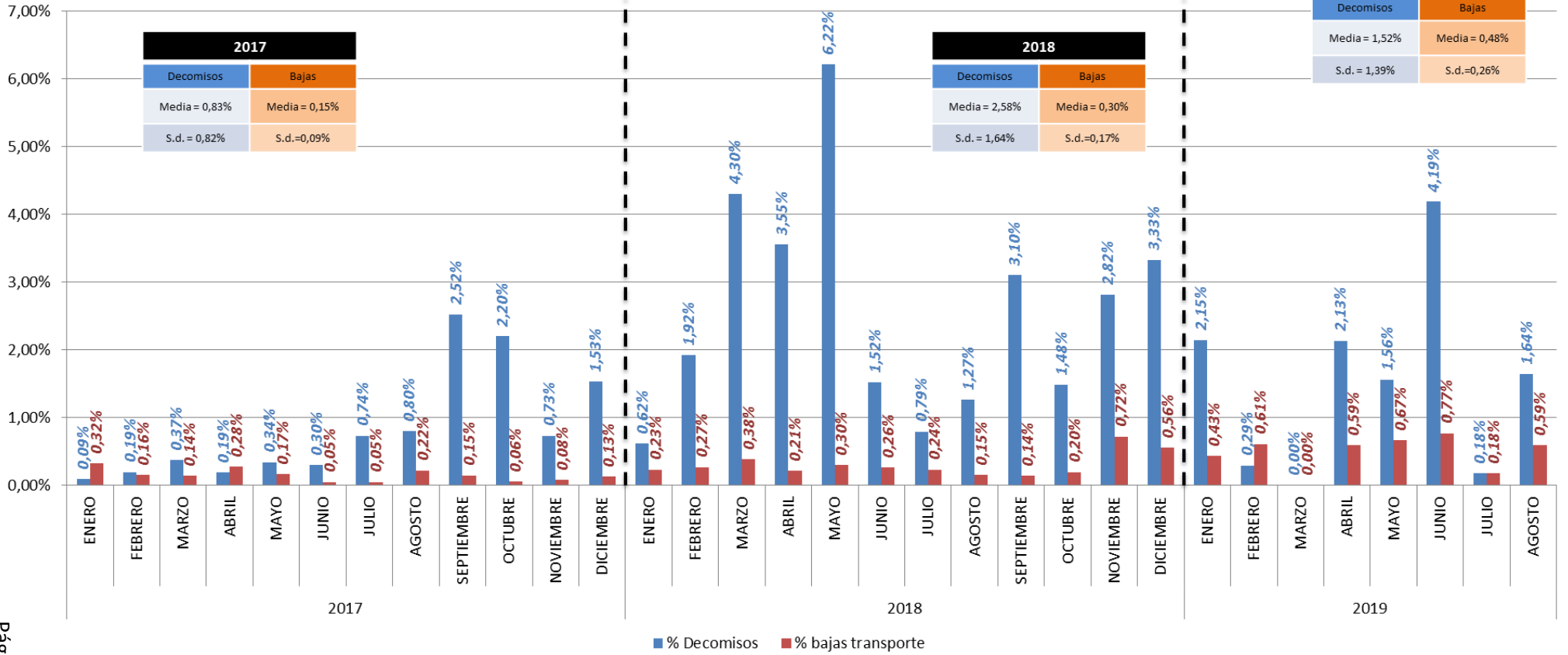
Tabla 31. Bajas en transporte y decomisos durante los años 2017 a 2019 en la granja G

MES \ AÑO	2017				
	RECIBIDOS	BAJAS TRANSPORTE	%	DECOMISOS	%
ENERO	7763	25	0,32%	7	0,09%
FEBRERO	7721	12	0,16%	15	0,19%
MARZO	9967	14	0,14%	37	0,37%
ABRIL	8353	23	0,28%	16	0,19%
MAYO	13187	22	0,17%	45	0,34%
JUNIO	11677	6	0,05%	35	0,30%
JULIO	9376	5	0,05%	69	0,74%
AGOSTO	10027	22	0,22%	80	0,80%
SEPTIEMBRE	9395	14	0,15%	237	2,52%
OCTUBRE	11810	7	0,06%	260	2,20%
NOVIEMBRE	9718	8	0,08%	71	0,73%
DICIEMBRE	11680	15	0,13%	179	1,53%
TOTAL	120674	173	0,14%	1051	0,87%

MES \ AÑO	2018				
	RECIBIDOS	BAJAS TRANSPORTE	%	DECOMISOS	%
ENERO	7280	17	0,23%	45	0,62%
FEBRERO	11590	31	0,27%	223	1,92%
MARZO	12754	49	0,38%	549	4,30%
ABRIL	10725	23	0,21%	381	3,55%
MAYO	10055	30	0,30%	625	6,22%
JUNIO	14120	37	0,26%	215	1,52%
JULIO	12710	30	0,24%	101	0,79%
AGOSTO	8605	13	0,15%	109	1,27%
SEPTIEMBRE	9350	13	0,14%	290	3,10%
OCTUBRE	8157	16	0,20%	121	1,48%
NOVIEMBRE	5150	37	0,72%	145	2,82%
DICIEMBRE	9340	52	0,56%	311	3,33%
TOTAL	119836	348	0,29%	3115	2,60%

MES \ AÑO	2019 (HASTA 27/08/19)				
	RECIBIDOS	BAJAS TRANSPORTE	%	DECOMISOS	%
ENERO	6480	28	0,43%	139	2,15%
FEBRERO	3750	23	0,61%	11	0,29%
MARZO	0	0	0,00%	0	0,00%
ABRIL	11297	67	0,59%	241	2,13%
MAYO	8082	54	0,67%	126	1,56%
JUNIO	8853	68	0,77%	371	4,19%
JULIO	570	1	0,18%	1	0,18%
AGOSTO	8240	49	0,59%	135	1,64%
SEPTIEMBRE					
OCTUBRE					
NOVIEMBRE					
DICIEMBRE					
TOTAL	47272	290	0,61%	1024	2,17%

Decomisos y bajas de transporte. Granja G



Tras el cálculo de estacionalidad mediante el método de cálculo de índices de estacionalidad; los índices obtenidos para cada mes fueron:

Tabla 32. Índices estacionales para las bajas en transporte y los decomisos por pleuritis

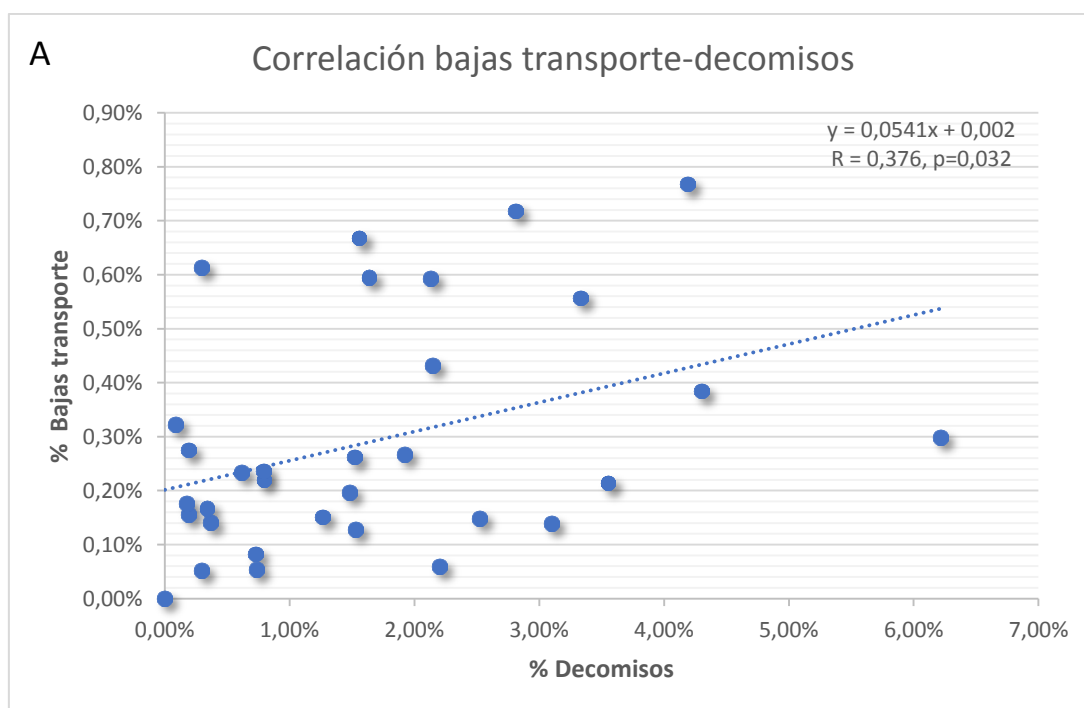
MES	Bajas transporte	Decomisos pleuritis
ENERO	101,23	116,75
FEBRERO	104,32	96,97
MARZO	106,84	50,92
ABRIL	98,27	99,82
MAYO	96,06	108,17
JUNIO	99,99	95,00
JULIO	93,10	63,60
AGOSTO	99,81	79,54
SEPTIEMBRE	105,45	52,22
OCTUBRE	99,20	46,30
NOVIEMBRE	97,21	145,15
DICIEMBRE	98,64	124,20

En rojo están marcados los meses con mayor probabilidad y en verde los que tienen menor probabilidad

Si bien es cierto que se trata de una serie estacional corta y que por tanto es muy sensible a las variaciones medias; los meses más probables para tener decomisos en matadero por pleuritis son noviembre, diciembre y enero y los menos probables marzo, y el periodo julio-octubre. Sin embargo, los meses más probables para sufrir bajas por transporte son enero-marzo y septiembre, aunque los índices estacionales para este parámetro son muy pequeños. A este respecto, Maes et al. (2001) demuestran una mayor probabilidad de ser seropositivo al sacrificio en los periodos de mayo-agosto y noviembre-diciembre, aunque los autores no encuentran razón para esa mayor seroprevalencia, especialmente en los animales sacrificados en verano. No debemos olvidar que la zona de estudio está en el hemisferio sur, por lo que climáticamente, el periodo de verano correspondería a la época entre diciembre y marzo. Esto coincidiría con la estacionalidad descrita por Maes para la seroprevalencia; primavera y verano serían las épocas más probables para que haya decomisos por pleuritis. Lógicamente la estacionalidad de las bajas en transporte también coincide con la época de verano, dado que animales con enfermedades respiratorias tendrán

una mayor tendencia a padecer los efectos de las altas temperaturas. Sorprendentemente, los sacrificios de invierno son aquellos que menor probabilidad de tener decomisos por pleuritis. También debemos tener en cuenta que algunos de los efectos que desencadenan la aparición de pleuritis pueden haber concurrido hasta 4 meses antes del sacrificio. En otros países no se encuentra ninguna correlación entre los parámetros climáticos durante el cebo y la prevalencia de pleuritis al sacrificio, aunque sí muestran correlación con la probabilidad de diseminación de App por una población (Beskow et al., 1998). Y por supuesto, existen estudios donde no encuentran relación entre la pleuritis adhesiva al sacrificio y la seropositividad frente a *A. pleuropneumoniae* (Holmgren et al., 1999), lo que indica que hay otros factores y patógenos que pueden estar implicados en este problema. Merialdi et al. (2012) consideran sugestiva de pleuroneumonía tan solo las pleuritis dorsocaudales, lo que en su estudio constituye un 25,1% de los pulmones estudiados.

Algunos estudios no relacionan la seropositividad frente a ciertos serotipos (2 y 3) con la frecuencia de pleuritis al sacrificio (Holmgren et al., 1999)



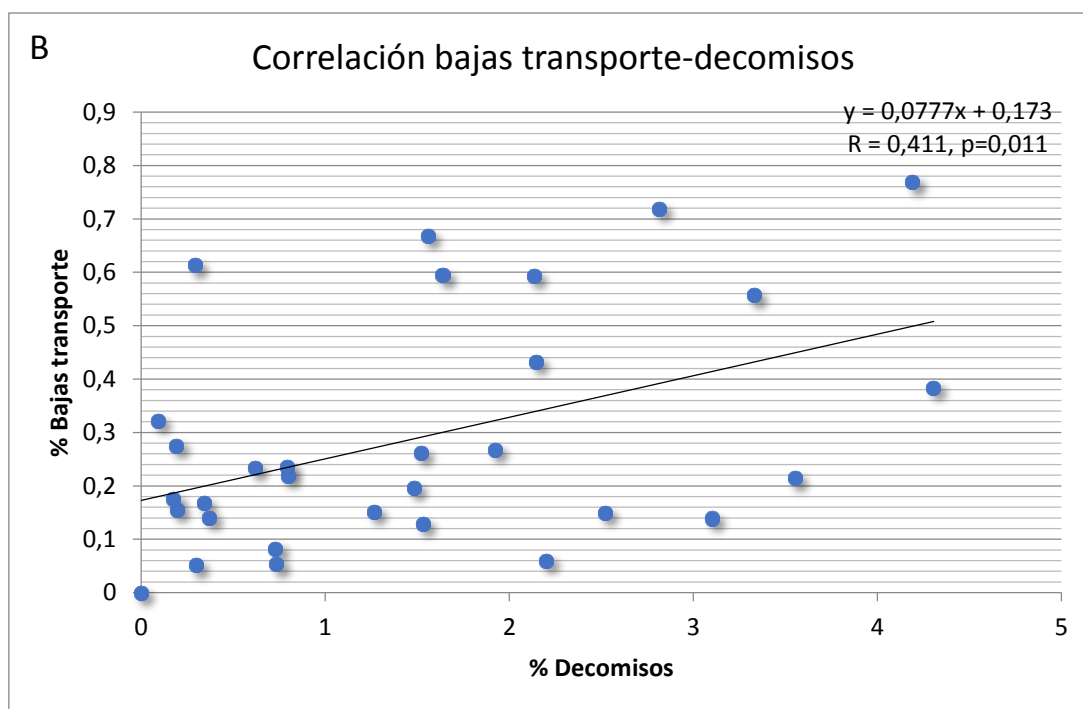


Figura 23. Correlación entre bajas de transporte y decomisos en matadero. A) Todos los datos. B) Eliminado un valor extremo.

Se observa una correlación positiva y significativa entre las bajas de transporte y los decomisos en matadero. Este hecho puede estar determinado por la mayor presencia de animales con lesiones crónicas en los lotes, lo que haría que en aquellos en los que se produce una mayor mortalidad en transporte sean aquellos lotes que después van a tener mayor decomiso.

La frecuencia de pleuritis adhesiva al sacrificio varía notablemente entre países. Se han documentado prevalencias entre el 2,7-12% en Holanda (Homgren et al., 1999; Augustin et al., 2008), hasta un 47% en Italia (Merialdi et al., 2012), pasando por un 41% en Noruega (Falk et al., 1991), 16% en Bélgica (Maes et al., 2001) o Reino Unido (Rubies et al., 1999), el 5-20% de Finlandia (Hälli et al., 2012), entre el 14-25% en Dinamarca (Enøe et al, 2002; Cleaveland-Nielsen et al., 2002) o el 26% en España (Fraile et al., 2010).

Todas estas cifras son superiores a las documentadas en este estudio en la granja G; entre el 0,09% y el 6,24% como máximo; pero hay que tener en cuenta que en este estudio se han incluido solo los decomisos y en los demás se hace una evaluación, aunque no se hayan decomisado parcial o totalmente las canales y además

se han tenido en cuenta otros muchos patógenos que podrían producir pleuritis adhesiva. Además, Brasil cuenta con una circunstancia sanitaria diferenciadora de los países mencionados: es un país libre de virus PRRS, por lo que cabe esperar una menor prevalencia de alteraciones respiratorias y por ende, de la presencia de lesiones al sacrificio. Las cifras obtenidas en este estudio concuerdan con las publicadas por EMBRAPA (Morés et al., 2017), muestran cifras de canales enviadas a inspección por pleuritis o pericarditis adhesivas de entre 6,16% y 8,64% en el periodo 2010-2014, con más de 3.000.000 de canales estudiadas. De estos, más del 95% de media fueron liberados para el consumo y solo un 1,45% fueron destruidas. Los autores concluyen que la prevalencia media fue del 7,3%, con un perjuicio de unos 2,14 Euros por cerdo sacrificado durante todo el periodo estudiado. En otro estudio realizado en Mato Grosso del Sur, durante el periodo 2007-2009, varió entre el 0,022% y el 0,005%, lo que supone cifras muy bajas comparadas con las obtenidas en este estudio (Bueno et al, 2013).

En cuanto a la estacionalidad de las bajas en transporte, no existen muchas referencias en la literatura, y menos las que relacionan la mortalidad en transporte con la presencia de lesiones al sacrificio. Se ha constatado una cierta estacionalidad en Europa, con mayor incidencia de mortalidad en verano e invierno (Voslarova et al., 2017), pero los autores lo relacionan con las cuestiones climáticas y la distancia recorrida. De cualquier manera, en nuestro estudio hemos observado una mortalidad entre 0,15-0,48%, lo que es muy superior a las mortalidad documentadas en Estados Unidos (Ritter et al., 2009) con un 0,25% o en Canadá con un 0,17% (Dewey et al., 2009). En Europa se ha constatado un rango muy variado entre 0,05-0,5% (Warriss et al., 1996; Warriss, 1998), aunque debemos reconocer que estos datos son antiguos y probablemente no reflejen la realidad actual. De hecho Voslarova et al. (2017) confirman una disminución progresiva de la mortalidad en transporte al comparar los años del periodo 2019-2014. La mortalidad en transporte se relaciona con temperaturas altas, entendidas como superiores a 17°C en Canadá (Haley et al., 2010) y por encima de 21°C en Chequia (Voslarova et al., 2017); en las zonas donde se produce la operación de la granja G estas temperaturas se superan ampliamente durante la época en la que mayor es el índice estacional calculado.

4.6 Evaluación de bioseguridad

4.6.1 Resultados de la auditoría de bioseguridad mediante el sistema semáforo.

La siguiente tabla muestra las puntuaciones obtenidas por cada granja del estudio en la evaluación de bioseguridad.

Tabla 33. Evaluación (por puntos) del Semáforo de Bioseguridad (Área externa, interna y total).

Granja - Estado	Signos clínicos	Semáforo de Bioseguridad (puntos)		
		Externa	Interna	Total
O - SP	Ausente	66	46	112
J - PR	Ausente	216	56	272
T - PR	Ausente	222	51	273
N - PR	Ausente	216	70	286
A - PR	Ausente	372	10	382
P - MG	Ausente	348	38	386
C - PR	Ausente	369	24	393
I - SP	Ausente	336	62	398
D - MT	Ausente	351	64	415
B - PR	Ausente	399	30	429
K - PR	Ausente	420	64	484
U - SC	Ausente	480	79	559
Q - MG	Presente	39	14	53
F - MT	Presente	87	12	99*
S - SP	Presente	30	36	66
L - MG	Presente	54	48	102
H - SP	Presente	123	26	149
E - MT	Presente	228	23	251
G - SP	Presente	240	28	268
M - MG	Presente	282	43	325

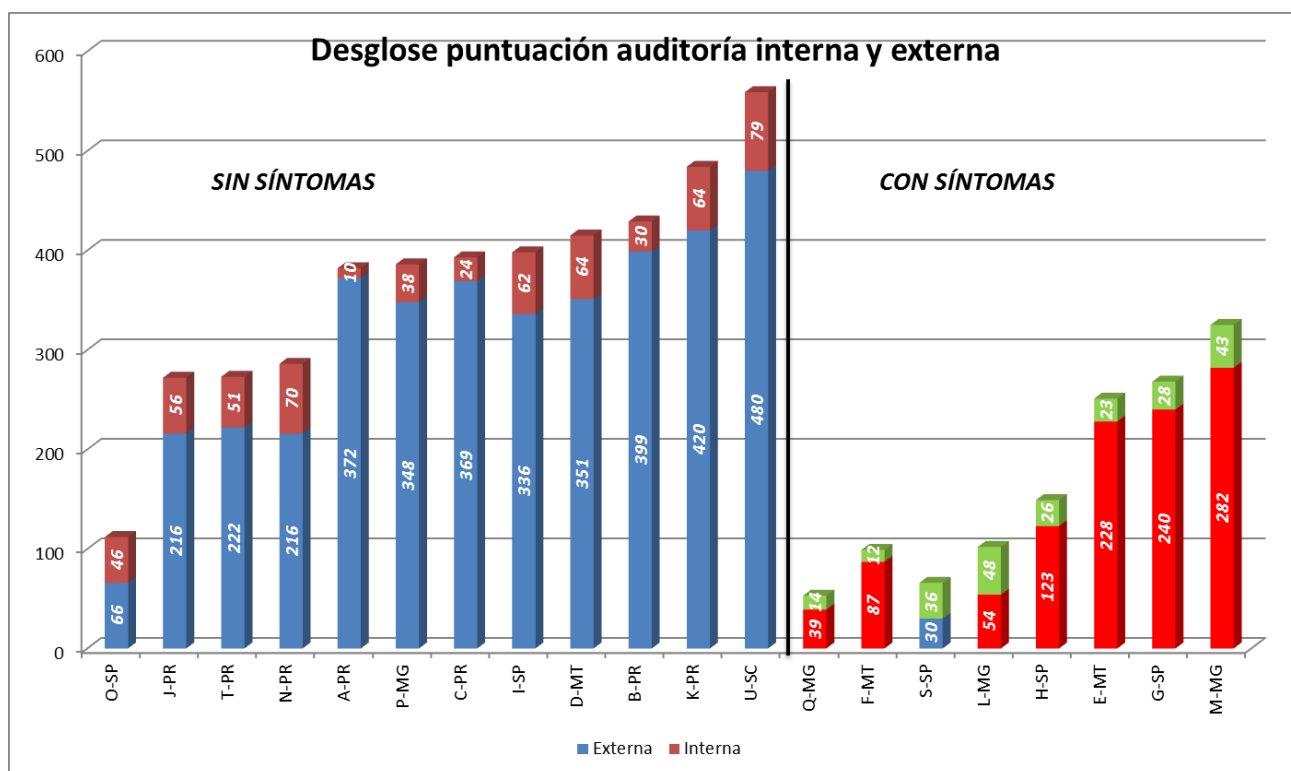


Figura 24. Puntuación total, desglosada en bioseguridad interna y externa obtenida por cada granja, dependiendo de la presencia/ausencia de síntomas clínicos

Tabla 34. Evaluación estadística del semáforo de bioseguridad

Bioseguridad			
Signos Clínico	Externa	Interna	Total
Ausente	316 ^a	50 ^a	366 ^a
Presente	135 ^b	29 ^b	164 ^b
Valor del P	<0,0001	0,0010	<0,0001
CV (%)	44,24	43,55	38,63

Los distintos superíndices indican diferencias significativas

Al comparar las puntuaciones obtenidas en cada grupo, se observó que había diferencias significativas entre grupos en todas las áreas de la Bioseguridad Externa ($p < 0,0001$), Interna ($p = 0,0010$) y Total ($p < 0,0001$).

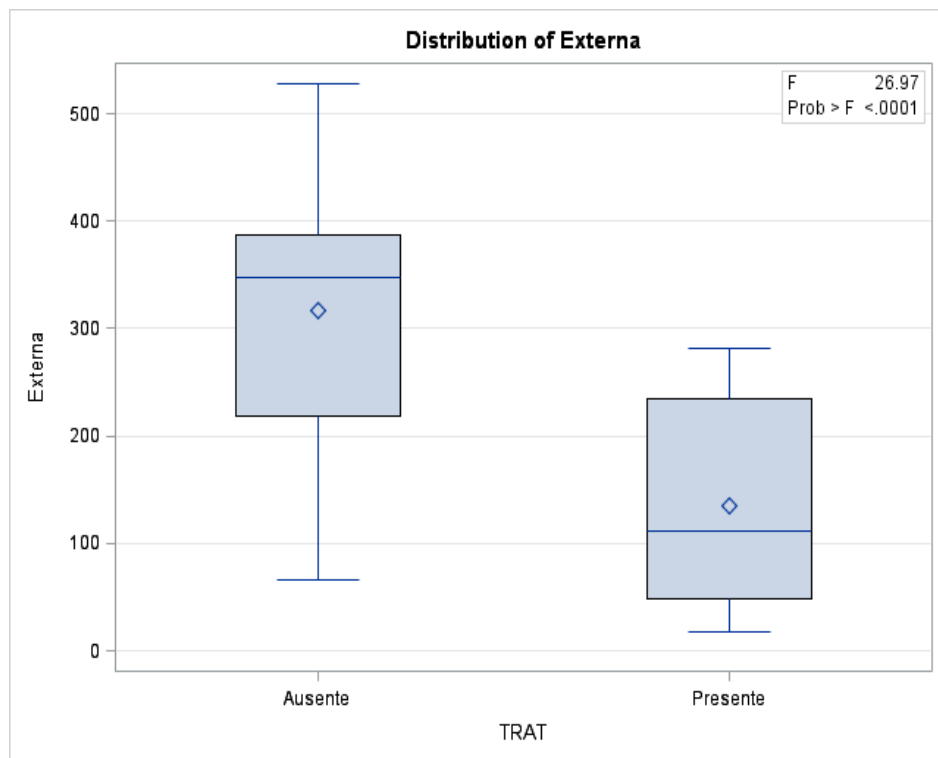


Figura 25. Diagrama de cajas para evaluación estadística entre Ausencia y Presencia de Signos Clínicos de Semáforo de Bioseguridad Externa.

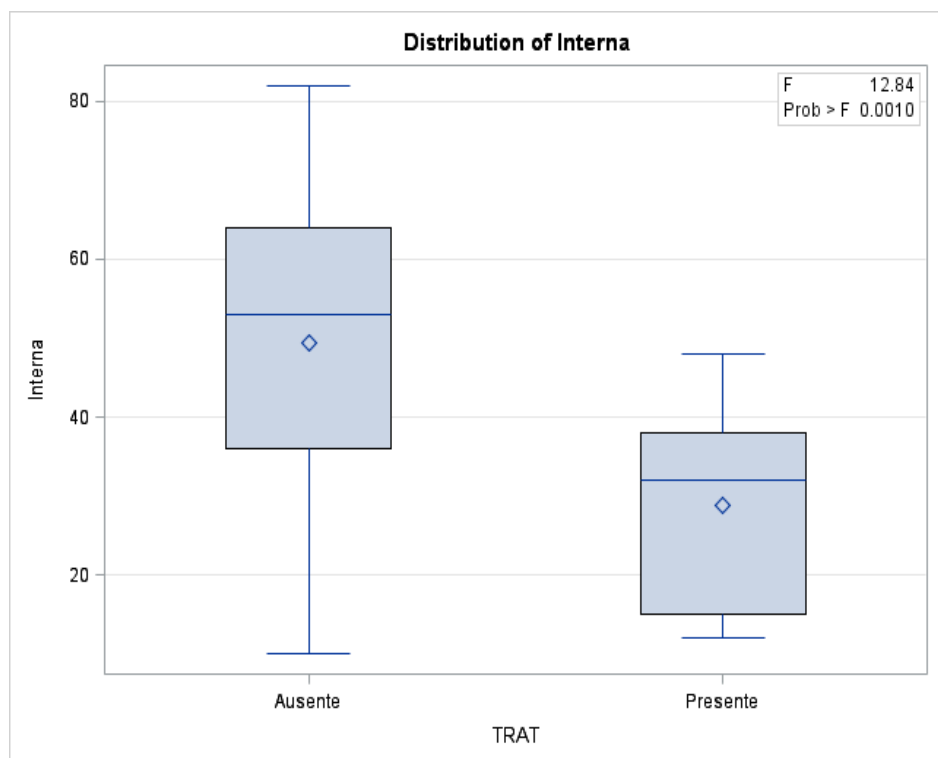


Figura 26. Diagrama de cajas para evaluación estadística entre Ausencia y Presencia de Signos Clínicos de Semáforo de Bioseguridad Interna.

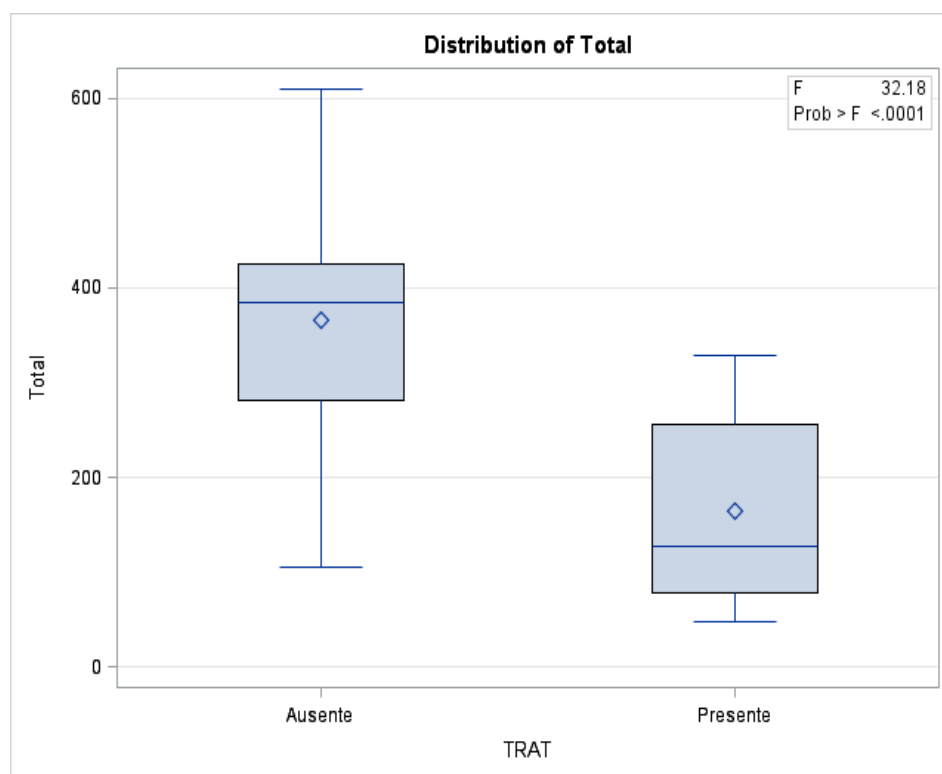


Figura 27. Diagrama de cajas para evaluación estadística entre Ausencia y Presencia de Signos Clínicos do Semáforo de Bioseguridad Total.

Es difícil encontrar en la literatura trabajos donde se aplique una valoración global a la bioseguridad aplicada en una granja, ya que casi siempre son análisis de factores, y normalmente mucho menos abundantes que los aplicados en este estudio. Aun así, Maes et al. (2001) en Bélgica, calificando la bioseguridad como mala, regular y buena, pero sin una base objetiva, asegura que las granjas con bioseguridad mala tienen más probabilidades de ser seroprevalente a App, mientras que las que tienen bioseguridad regular tiene menos probabilidad de tener una serología positiva frente a los serotipos 2, 3 ó 9. Gadd (citado por Thomson et al., 2007), ha calculado un beneficio de hasta 7 euros por cerdo de cebo aplicando un programa completo de bioseguridad, en contraposición a evaluar y aplicar solo protocolos de limpieza y desinfección.

Calculadas las diferencias de producción (Apartado 3.2.4), en nuestro caso las diferencias en bioseguridad relacionadas con la presencia o no de síntomas, produce diferencias en el coste década cerdo de cebo entre 3 y 11 €.

4.6.2 – Estudio de cada factor individual dependiendo de la presencia de signos clínicos

4.6.2.1 Bioseguridad externa

No demostraron ninguna influencia los factores de riesgo *Cuarentena, Entrada de animales externos, Introducción de semen, Presencia de visitantes, Proximidad de otras granjas, Agua tratada, Piensos tratados, Manejo adecuado de purines, y Desinfección de vehículos.*

A continuación, se muestran los resultados de frecuencias para aquellos factores de riesgo que han mostrado diferencias significativas.

a. Entrada de los vehículos en la granja

Tabla 35. Tabla de contingencia para el riesgo *Entrada de vehículos en la granja*

			signos		Total
			NO	SI	
Transporte	NO	Recuento	8	0	8
		% de Transporte	100,0%	,0%	100,0%
		% de signos	66,7%	,0%	38,1%
		% del total	38,1%	,0%	38,1%
		Residuos corregidos	3,1	-3,1	
	SI	Recuento	4	9	13
		% de Transporte	30,8%	69,2%	100,0%
		% de signos	33,3%	100,0%	61,9%
		% del total	19,0%	42,9%	61,9%
		Residuos corregidos	-3,1	3,1	

Hubo una diferencia significativa ($p=0,002$) entre las granjas con síntomas que permitían el acceso a los vehículos (100%) frente a las que no tenían síntomas (33%). El análisis de residuos indicó una frecuencia observada mayor que la esperada en las granjas con síntomas ($RC=3,1$).

b. Bajada del conductor del vehículo

Tabla 36. Tabla de contingencia para el riesgo *Bajada del conductor del vehículo*

			signos		Total
			NO	SI	
Conductor	NO	Recuento	10	1	11
		% de Conductor	90,9%	9,1%	100,0%
		% de signos	83,3%	11,1%	52,4%
		% del total	47,6%	4,8%	52,4%
		Residuos corregidos	3,3	-3,3	
	SI	Recuento	2	8	10
		% de Conductor	20,0%	80,0%	100,0%
		% de signos	16,7%	88,9%	47,6%
		% del total	9,5%	38,1%	47,6%
		Residuos corregidos	-3,3	3,3	

Hubo diferencia significativa ($p=0,001$) al comparar las granjas con síntomas en las que se bajan los conductores de los vehículos (88,9%) comparadas con las granjas sin síntomas en las que lo hacen (16,7%).

c. Proximidad a granjas con otras especies

Tabla 37. Tabla de contingencia para el riesgo *Proximidad de granjas con otras especies*

			signos		Total
			NO	SI	
Otras_especies	NO	Recuento	9	0	9
		% de Otras_especies	100,0%	,0%	100,0%
		% de signos	75,0%	,0%	42,9%
		% del total	42,9%	,0%	42,9%
		Residuos corregidos	3,4	-3,4	
	SI	Recuento	3	9	12
		% de Otras_especies	25,0%	75,0%	100,0%
		% de signos	25,0%	100,0%	57,1%
		% del total	14,3%	42,9%	57,1%
		Residuos corregidos	-3,4	3,4	

Las granjas con síntomas tenían en proximidad granjas con otras especies (100%), comparadas ($p=0,001$) con aquellas granjas que no los tenían (25%). En ambos casos los porcentajes observados difirieron de los esperados ($RC=3,4$).

d. Eliminación adecuada de cadáveresTabla 38. Tabla de contingencia para el riesgo *Eliminación adecuada de los cadáveres*

			signos		Total
			NO	SI	
Cadáveres	NO	Recuento	0	7	7
		% de Cadáveres	,0%	100,0%	100,0%
		% de signos	,0%	77,8%	33,3%
		% del total	,0%	33,3%	33,3%
		Residuos corregidos	-3,7	3,7	
	SI	Recuento	12	2	14
		% de Cadáveres	85,7%	14,3%	100,0%
		% de signos	100,0%	22,2%	66,7%
		% del total	57,1%	9,5%	66,7%
		Residuos corregidos	3,7	-3,7	

Las granjas con síntomas no disponían de un sistema adecuado de eliminación de cadáveres en una proporción mayor (77,8%) que aquellas que no tenían síntomas (0%, $p < 0,001$).

e. Práctica de baño de las cerdas al cambio de localTabla 39. Tabla de contingencia para el riesgo *Práctica de baño de las cerdas*

			signos		Total
			NO	SI	
Baño	NO	Recuento	3	9	12
		% de Baño	25,0%	75,0%	100,0%
		% de signos	25,0%	100,0%	57,1%
		% del total	14,3%	42,9%	57,1%
		Residuos corregidos	-3,4	3,4	
	SI	Recuento	9	0	9
		% de Baño	100,0%	,0%	100,0%
		% de signos	75,0%	,0%	42,9%
		% del total	42,9%	,0%	42,9%
		Residuos corregidos	3,4	-3,4	

La frecuencia de granjas con síntomas que no practican el baño de las cerdas al cambio de local (100%) fue significativamente mayor ($p = 0,001$) que aquellas que no tenían síntomas (25%).

e. Control de plagas externasTabla 40. Tabla de contingencia para el riesgo *Control de plagas externas*

			Plagas_ext		Total
			NO	SI	
signos	NO	Recuento	7	5	12
		% de signos	58,3%	41,7%	100,0%
		% de Plagas_ext	43,8%	100,0%	57,1%
		% del total	33,3%	23,8%	57,1%
		Residuos corregidos	-2,2	2,2	
	SI	Recuento	9	0	9
		% de signos	100,0%	,0%	100,0%
		% de Plagas_ext	56,3%	,0%	42,9%
		% del total	42,9%	,0%	42,9%
		Residuos corregidos	2,2	-2,2	

Las granjas con síntomas clínicos no tenían control de plagas externas en un 100% de los casos, mientras que las que no los tenían carecían de esta práctica en un 43,8% de los casos (p=0,027).

d. Vallado perimetral

Tabla 41. Tabla de contingencia para el riesgo *Vallado perimetral*

			signos		Total
			NO	SI	
Vallado	NO	Recuento	1	8	9
		% de Vallado	11,1%	88,9%	100,0%
		% de signos	8,3%	88,9%	42,9%
		% del total	4,8%	38,1%	42,9%
		Residuos corregidos	-3,7	3,7	
	SI	Recuento	11	1	12
		% de Vallado	91,7%	8,3%	100,0%
		% de signos	91,7%	11,1%	57,1%
		% del total	52,4%	4,8%	57,1%
		Residuos corregidos	3,7	-3,7	

Las granjas con síntomas carecían de vallado en un 88,9%, mientras que tan solo el 8,3% de las que no presentaban síntomas no tenía valla (p<0,001).

Se consideraron relevantes los residuos con valores superiores a 1,96 ($\alpha=5\%$) y 1,65 ($\alpha=10\%$). Así, se observa que la presencia de signos clínicos compatibles con actinobacilosis en cerdos se asocia significativamente con la falta de Destino de los cadáveres, la falta de vallado perimetral, que se bajen los conductores de los caminos y que haya proximidad con otras especies en la misma granja.

La de baño en ambas situaciones representó 1,7. Puede ser que no sea una diferencia para la circulación de la pleuroneumonía entre granjas. Pero se trata de una medida importante para tener control de otras enfermedades. Y también es una práctica importante y disciplinar como medida de bioseguridad.

4.6.2.1 Bioseguridad interna

De entre los factores estudiados, no mostraron influencia significativa en la frecuencia de aparición de síntomas *Entrada de animales externos, Tipo de producción, Mezcla de orígenes, entrada de semen, reposición de machos, y presencia de plagas.*

A continuación, presentaremos las frecuencias obtenidas para los demás factores de riesgo.

a. Mezcla de edades

Tabla 42. Tabla de contingencia para el riesgo *Mezcla de edades*

			signos		Total
			NO	SI	
Mezcla_edad	NO	Recuento	6	0	6
		% de Mezcla_edad	100,0%	,0%	100,0%
		% de signos	50,0%	,0%	28,6%
		% del total	28,6%	,0%	28,6%
		Residuos corregidos	2,5	-2,5	
	SI	Recuento	6	9	15
		% de Mezcla_edad	40,0%	60,0%	100,0%
		% de signos	50,0%	100,0%	71,4%
		% del total	28,6%	42,9%	71,4%
		Residuos corregidos	-2,5	2,5	

Un 100% de las granjas con síntomas mezclaban animales de distintas edades en el mismo edificio, en contraste con un 50% de las que no tenían que también lo hacía ($p=0,012$).

b. Origen de la reposición de hembras

Tabla 43. Tabla de contingencia para el riesgo *Origen de la reposición*

			signos		Total
			NO	SI	
Repo_hem	MISMO ORIGEN	Recuento	11	5	16
		% de Repo_hem	68,8%	31,3%	100,0%
		% de signos	91,7%	55,6%	76,2%
		% del total	52,4%	23,8%	76,2%
		Residuos corregidos	1,9	-1,9	
	DISTINTO ORIGEN	Recuento	1	4	5
		% de Repo_hem	20,0%	80,0%	100,0%
		% de signos	8,3%	44,4%	23,8%
		% del total	4,8%	19,0%	23,8%
		Residuos corregidos	-1,9	1,9	

Entre las granjas con síntomas un 44,4% introducía cerdas de reposición de múltiples orígenes, mientras que entre las que no tenían síntomas lo hacía tan solo un 8,3% (p=0,055).

c. Reintroducción de los lechones recuperados al flujo

Tabla 44. Tabla de contingencia para el riesgo Reintroducción de lechones recuperados

			signos		Total
			NO	SI	
Recuperados	NO	Recuento	12	2	14
		% de Recuperados	85,7%	14,3%	100,0%
		% de signos	100,0%	22,2%	66,7%
		% del total	57,1%	9,5%	66,7%
		Residuos corregidos	3,7	-3,7	
	SI	Recuento	0	7	7
		% de Recuperados	,0%	100,0%	100,0%
		% de signos	,0%	77,8%	33,3%
		% del total	,0%	33,3%	33,3%
		Residuos corregidos	-3,7	3,7	

Otro factor relevante es la reintroducción de lechones que han enfermado y se han recuperado en los circuitos: un 77,8% de las granjas con síntomas lo hacía, mientras que ninguna de las granjas sin síntomas tenía esta práctica productiva (p<0,001).

d. Utilización de guantes durante las prácticas zootécnicasTabla 45. Tabla de contingencia para el riesgo *Uso de guantes*

			signos		Total
			NO	SI	
Guantes	NO	Recuento	4	9	13
		% de Guantes	30,8%	69,2%	100,0%
		% de signos	33,3%	100,0%	61,9%
		% del total	19,0%	42,9%	61,9%
		Residuos corregidos	-3,1	3,1	
	SI	Recuento	8	0	8
		% de Guantes	100,0%	,0%	100,0%
		% de signos	66,7%	,0%	38,1%
		% del total	38,1%	,0%	38,1%
		Residuos corregidos	3,1	-3,1	

Ninguna de las granjas con síntomas usaba guantes, mientras que solo en un 33% de las granjas con síntomas el personal no usaba guantes durante las actividades de manejo rutinarias ($p=0,002$).

e. Utilización de botas específicas en la granjaTabla 46. Tabla de contingencia para el riesgo *Uso de botas*

			signos		Total
			NO	SI	
Botas	NO	Recuento	2	8	10
		% de Botas	20,0%	80,0%	100,0%
		% de signos	16,7%	88,9%	47,6%
		% del total	9,5%	38,1%	47,6%
		Residuos corregidos	-3,3	3,3	
	SI	Recuento	10	1	11
		% de Botas	90,9%	9,1%	100,0%
		% de signos	83,3%	11,1%	52,4%
		% del total	47,6%	4,8%	52,4%
		Residuos corregidos	3,3	-3,3	

En un 83,3% de las granjas sin síntomas el personal usaba botas específicas que no salían de las granjas, y sin embargo esto ocurría en solo un 11,1% de las granjas que sí tenían sintomatología relacionada con *A. pleuropneumoniae*.

f. Utilización de ropa específica en la granja

Tabla 47. Tabla de contingencia para el riesgo *Uso de ropa*

			signos		Total
			NO	SI	
Ropa	NO	Recuento	3	8	11
		% de Ropa	27,3%	72,7%	100,0%
		% de signos	25,0%	88,9%	52,4%
		% del total	14,3%	38,1%	52,4%
		Residuos corregidos	-2,9	2,9	
	SI	Recuento	9	1	10
		% de Ropa	90,0%	10,0%	100,0%
		% de signos	75,0%	11,1%	47,6%
		% del total	42,9%	4,8%	47,6%
		Residuos corregidos	2,9	-2,9	

Las granjas con síntomas tenían ropa específica que no salía de la granja en un 11,1% de los casos, mientras que entre las que no tenían síntomas este porcentaje se elevó al 75% de ellas (p=0,004)

g. Todo dentro/Todo fuera por local

Tabla 48. Tabla de contingencia para el riesgo *TD/TF por local*

			signos		Total
			NO	SI	
TD_TF	NO	Recuento	1	8	9
		% de TD_TF	11,1%	88,9%	100,0%
		% de signos	8,3%	88,9%	42,9%
		% del total	4,8%	38,1%	42,9%
		Residuos corregidos	-3,7	3,7	
	SI	Recuento	11	1	12
		% de TD_TF	91,7%	8,3%	100,0%
		% de signos	91,7%	11,1%	57,1%
		% del total	52,4%	4,8%	57,1%
		Residuos corregidos	3,7	-3,7	

Las granjas sin síntomas practicaban todo dentro/todo fuera por local en un 91,7% de ellas, mientras que entre las granjas con síntomas lo hacían un 11,1% (p<0,001).

h. Práctica correcta de limpiezaTabla 49. Tabla de contingencia para el riesgo *Limpieza correcta*

			signos		Total
			NO	SI	
Limpieza	NO	Recuento	2	6	8
		% de Limpieza	25,0%	75,0%	100,0%
		% de signos	16,7%	66,7%	38,1%
		% del total	9,5%	28,6%	38,1%
		Residuos corregidos	-2,3	2,3	
	SI	Recuento	10	3	13
		% de Limpieza	76,9%	23,1%	100,0%
		% de signos	83,3%	33,3%	61,9%
		% del total	47,6%	14,3%	61,9%
		Residuos corregidos	2,3	-2,3	

Un 83,3% de las granjas sin síntomas practicaban una limpieza correcta mientras que solo en un 33,3% de las que tenían síntomas se evaluó la limpieza como correcta.

i. Flujo correcto de animales

Tabla 50. Tabla de contingencia para el riesgo Flujo correcto de animales

			signos		Total
			NO	SI	
Flujo_adequado	NO	Recuento	2	8	10
		% de Flujo_adequado	20,0%	80,0%	100,0%
		% de signos	16,7%	88,9%	47,6%
		% del total	9,5%	38,1%	47,6%
		Residuos corregidos	-3,3	3,3	
	SI	Recuento	10	1	11
		% de Flujo_adequado	90,9%	9,1%	100,0%
		% de signos	83,3%	11,1%	52,4%
		% del total	47,6%	4,8%	52,4%
		Residuos corregidos	3,3	-3,3	

Las granjas con síntomas respiratorios relacionados con *A. pleuropneumoniae* realizaban un flujo de lechones correcto en el 11,1% de los casos, mientras que entre las granjas sin clínica de la enfermedad el flujo era adecuado en el 83,3% de ellas ($p=0,001$)

j. Reposición de cerdas superior al 40%

Tabla 51. Tabla de contingencia para el riesgo Flujo correcto de animales

			signos		Total
			NO	SI	
Reposicion_mas40	NO	Recuento	0	6	6
		% de Reposicion_mas40	,0%	100,0%	100,0%
		% de signos	,0%	66,7%	28,6%
		% del total	,0%	28,6%	28,6%
		Residuos corregidos	-3,3	3,3	
	SI	Recuento	12	3	15
		% de Reposicion_mas40	80,0%	20,0%	100,0%
		% de signos	100,0%	33,3%	71,4%
		% del total	57,1%	14,3%	71,4%
		Residuos corregidos	3,3	-3,3	

El 33,3% de las granjas con síntomas respiratorios relacionados con la actinobacilosis hacían una reposición superior al 40% anual, mientras que 100% de las granjas sin síntomas relacionados tenía una reposición superior a dicha cifra (p=0,001).

k. Presencia de más de un 20% de cerdas con 7 ó más partos

Tabla 52. Tabla de contingencia para el riesgo 20% cerdas más de 7 partos

			signos		Total
			NO	SI	
Cerdas_viejas	NO	Recuento	9	1	10
		% de Cerdas_viejas	90,0%	10,0%	100,0%
		% de signos	75,0%	11,1%	47,6%
		% del total	42,9%	4,8%	47,6%
		Residuos corregidos	2,9	-2,9	
	SI	Recuento	3	8	11
		% de Cerdas_viejas	27,3%	72,7%	100,0%
		% de signos	25,0%	88,9%	52,4%
		% del total	14,3%	38,1%	52,4%
		Residuos corregidos	-2,9	2,9	

El 88,9% de las granjas con síntomas tenía al menos un 20% de cerdas mayores de 7 partos y en contraste, un 25% de las granjas sin síntomas tenía ese porcentaje de cerdas con esa edad (p=0,004)

Resulta interesante el hecho de que las granjas sin sintomatología relacionada con el patógeno estudiado tengan una reposición superior al 40% y en un porcentaje

bajo tengan un 20% o más de cerdas con 7 ó más partos. Esto contrasta con la afirmación de que la mayor probabilidad de introducción de cepas virulentas en las granjas es a través de la introducción de animales. Bien es cierto, que la mayoría de las granjas sin síntomas introducen cerdas de la misma fuente siempre y esto disminuye el riesgo de introducir distintos serotipos de los ya presentes.

En un estudio llevado a cabo en Bélgica, Maes et al. (2001) establecen las odds ratio para distintos factores de granja. Así, una bioseguridad mala tiene 4,62 veces más probabilidades de ser seroprevalente a App, mientras que una moderada incrementa 1,48 veces más probabilidad de tener una serología positiva frente a los serotipos 2, 3 ó 9.

En cuanto a la bioseguridad interna, se observaron residuos significativos en las granjas con síntomas para los riesgos de reintroducción de animales en los flujos, no usar botas en las granjas, no tener instalaciones de ducha, no tener un flujo de animales adecuado y tener más del 20% de reposición de cerdas. El hecho de tener hospital, que tiene residuo significativo tanto en las granjas con síntomas como en las que no los tienen, es más una consecuencia del estado sanitario que un riesgo. Aquellas granjas con síntomas tienden a tener hospital, mientras que aquellas que tienen mejor estado sanitario –y por tanto ausencia de síntomas relacionados con App– no tienen hospital.

4.6.3 Análisis de riesgo para bioseguridad externa

Tabla 53. Análisis del riesgo (Odds ratio) para cada uno de los factores de bioseguridad externa

Parámetro	Signos clínicos		P	Odds ratio [IC 95%]	Observaciones
	Si (%)	No (%)			
Entrada de animales					
Si	100	91,7	P= 0,375 (NS)		
No	0	8,3			
Tipo de producción					
Ciclo cerrado	55,6	75	P= 0,350 (NS)		
Múltiples fases	44,4	25			
Mezcla de edades					
Si	100	50	P= 0,012	2,5 [1,345-4,646]	Las granjas que no mezclan edades tienen 2,5 veces más probabilidades de tener síntomas
No	0	50			
Mezcla de orígenes					
Si	33,3	8,3	P= 0,149 (NS)		
No	66,7	91,7			
Entrada de semen					
Si	33,3	66,7	P= 0,130 (NS)		
No	66,7	33,3			
Reposición hembras					
Único origen	55,6	91,7	P= 0,055	3,438 [0,577-20,46]	Las granjas con múltiples orígenes tienen 3,4 veces más probabilidades de tener síntomas
Múltiple origen	44,4	8,3			
Reposición machos					
Único origen	11,1	33,3	P= 0,237 (NS)		
Múltiple origen	88,9	66,7			
Hospital					
Si	88,9	0	P>0,001	9	Las granjas con signos clínicos tienen 9 veces más probabilidades de tener hospital
No	11,1	100			
Recuperados vuelven al flujo					
Si	77,8	0	P>0,001	4,5	Las granjas donde los recuperados vuelven al flujo tienen 4,5 veces más probabilidades de tener síntomas
No	22,2	100			
Uso de guantes					
Si	0	66,7	P=0,002	0,33	Las granjas que usan guantes tienen un tercio de las probabilidades de tener síntomas
No	100	33,3			
Uso de botas					
Si	11,1	83,3	P=0,001	7,5	Las granjas que no usan botas tienen 7,5 veces más probabilidades de tener síntomas
No	88,9	16,7			
Uso de ropa específica					
Si	11,1	75	P=0,004	6,75	Las granjas que no usan ropa específica tienen 6,75 veces más probabilidades de tener síntomas
No	88,9	25			
Hace todo dentro/todo fuera					
Si	11,1	91,7	p>0,001	10,67	Las granjas que no hacen TD/TF tienen 8,25 veces más probabilidades de tener síntomas
No	88,9	8,3			

Presencia de plagas	Si No	0 100	25 75	P=0,105 (NS)		
Realiza limpieza	Si No	33,3 66,7	83,3 16,7	P=0,020	0,32	Las granjas que realizan buena higiene tienen 0,32 veces menos probabilidades de tener síntomas
Flujo de producción adecuado	Si No	11,1 88,9	83,3 16,7	P=0,001	8,8	Las granjas que no tienen buen flujo de producción tienen 8,8 veces más probabilidades de tener síntomas
Reposición hembras >40%	Si No	33,3 66,7	100 0	P=0,001	3,3	Las granjas con alta tasa de reposición tienen 3,3 veces más probabilidades de tener síntomas
20% cerdas ≥7 partos	Si No	88,9 11,1	25 75	P=0,004	6,7	Las granjas con al menos un 20% de cerdas con más de 7 partos tienen 6,7 veces más probabilidades de tener síntomas
IT bajo	Si No	0 100	83,3 16,7	>0,001	0,167	Las granjas con signos clínicos tienen menos probabilidades de tener un IT bajo
Mortalidad en cebo	<3% >3%	22,2 74,8	100 0	>0,001	7	Las granjas con signos clínicos tienen 7 veces más probabilidades de tener una mortalidad superior al 3%
Coste medicación cerdo	< 4 \$ > 4 \$	33,3 66,7	83,3 16,7	P=0,20	3,25	Las granjas con signos clínicos tienen 3,25 veces más probabilidades de tener un gasto en medicaciones superior a 4 dólares por cerdo

El uso de los riesgos, nos permite generar un perfil de la granja con signos clínicos, que en base a los resultados de la tabla anterior será un granja que introduce cerdas de reposición de más de un origen, donde los lechones enfermos recuperados vuelven al flujo, no se usa ni guantes ni botas ni ropa específica que no salga de la granja, no se hace todo dentro todo fuera por local, la limpieza es deficiente, tiene baja reposición y censo envejecido. Como consecuencia de la enfermedad, estas granjas tendrán una alta mortalidad en cebo, un índice de transformación alto y más de 4 dólares de medicación por cerdo; y además contarán con hospital.

Determinando seroprevalencia al sacrificio en Bélgica, Maes et al. (2001) calculan una OR de 2,33 para aquellas granjas con más de 2 orígenes, muy cercana al 3,4 determinado en este estudio para las granjas con síntomas y con múltiples orígenes.

En Reino Unido, Jäger et al., (2012) calcularon un OR=9,3 relacionado con el incremento de pleuritis al sacrificio, lo que está relacionado con el nivel de enfermedad o de signos clínicos presentes en la granja. Este riesgo es prácticamente igual (OR=10,67) que el calculado en este estudio. Estos autores también calculan un OR=2,2 para los flujos inadecuados de animales, y en nuestras granjas este riesgo fue de OR=8,8. Sin embargo, Jäger calcula una OR=0,24 para riesgo reducido en granjas con buena limpieza, y en nuestro caso fue de OR=0,32; prácticamente igual. Los autores encuentran riesgo en la mezcla de animales y el sistema de producción, cosa que nosotros no hemos encontrado.

Es interesante ver como el tipo de sistema productivo (ciclo cerrado frente a múltiples fases) en este estudio no ha supuesto un riesgo para mostrar síntomas relacionados con *A. pleuropneumoniae*, ya que existen diversos estudios que indican que los ciclos cerrados tienen más probabilidad de ser seropositivos frente al patógeno y de tener pleuritis al sacrificio (Holmgren et al., 1999).

La limpieza inadecuada es otro de los factores que clásicamente se ha relacionado con infecciones y presencia clínica de App, llegando incluso a cuantificarse el impacto económico de una limpieza ineficaz entre 3,3 y 20,2 euros en casos moderados y graves de la enfermedad clínica (Stygar et al., 2016).

Tabla 54. Análisis del riesgo (Odds ratio) para cada uno de los factores de bioseguridad interna

Parámetro	Signos clínicos		P	Odds ratio (IC 95%)	Observaciones
	Si (%)	No (%)			
Cuarentena	Si	41,7	P= 0,528 (NS)		
	No	58,3			
Entrada de animales	Si	100	P= 0,375 (NS)		
	No	0			
Entrada de semen	Si	33,33	P= 0,697 (NS)		
	No	66,7			
Transporte	Si	100	P= 0,002	3,25	Las granjas donde entran los camiones tienen 3,25 más probabilidad de tener signos clínicos
	No	0			
Conductor baja	Si	88,9	P= 0,001	4,54 (1,29-15,9)	Las granjas donde se baja el conductor tienen 4,5 más probabilidad de tener signos clínicos
	No	11,1			
Visitantes	Si	77,8	P= 0,098 (NS)		
	No	22,2			
Proximidad a otras granjas	Si	33,3	P= 0,445 (NS)		
	No	66,7			
Contacto con otras especies	Si	100	P=0,001	4	Las granjas con cercanía a otras especies tienen 9 veces más probabilidades de tener síntomas
	No	0			
Agua tratada	Si	44,4	P=0,350		
	No	55,6			
Destino adecuado cadáveres	Si	22,2	P<0,001	7 (1,49-25,22)	Las granjas que no tienen un destino adecuado para los cadáveres tienen 7 veces más probabilidad de tener síntomas
	No	77,8			
Uso de baños para las cerdas	Si	0	P=0,001	1,25	Las granjas que no usan baños para las cerdas tienen 1,25 veces más probabilidades de tener síntomas
	No	100			
Desinfección de vehículos	Si	22,2	P=0,350 (NS)		
	No	77,8			
Control de plagas externas	Si	0	P=0,027	0,438	Las granjas que tienen control de plagas externas tienen menos probabilidades de tener
	No	100			

					síntomas
Vallado perimetral	Si	0	41,7	P=0,027	Las granjas que tienen vallado perimetral tienen menos riesgo de mostrar síntomas
	No	100	58,3		

Con respecto a la bioseguridad interna, la granja tipo con sintomatología es una granja sin vallado perimetral y que por tanto permite el acceso a caminos y conductores a sus instalaciones, que no usa baños para las cerdas al moverlas de un local a otro, que no tiene un tratamiento adecuado de cadáveres y que tiene granjas con otras especies en proximidad

5. Conclusiones

CONCLUSIONES

1. En este estudio se puso de manifiesto la relación entre la presencia de síntomas y la evidencia de *A. pleuropneumoniae* mediante cultivos o PCR, pese a que fueron positivas por serología frente a ApxIV
2. Los serotipos encontrados fueron el 4, 5, 7, 12 y 15; siendo el más prevalente el 7. El serotipo 15 no se había descrito hasta ahora en Brasil. Una misma granja puede infectarse sucesivamente por distintos serotipos del patógeno.
3. Hay una diferencia en el coste de producción en transición y cebo que puede llegar a los 10 euros de disminución en el coste por cerdo llevado al matadero en ausencia de síntomas relacionados con pleuroneumonía.
4. Hay factores concretos de bioseguridad externa e interna que muestran una influencia significativa sobre la presencia o ausencia de sintomatología relacionada con *A. pleuropneumoniae*.
5. Mediante la auditoría de bioseguridad se puede establecer un perfil de granja que tendrá síntomas relacionados con pleuroneumonía. Esto confirma la idea de que la clínica aparece en granjas infectadas que tienen factores detonantes.

6. Resumen

Resumen

Se han seleccionado 20 granjas en las principales zonas productoras de porcino de Brasil. El criterio fue que tuvieran una serología positiva frente a ApxIV. Se determinó la presencia de síntomas compatibles con pleuroneumonía, se tomaron muestras para aislar el patógeno y se serotipo mediante PCR. Además, se hizo una auditoría de bioseguridad, basada en un sistema semáforo evaluando la bioseguridad externa, interna y de contención. Se tomaron los parámetros reproductivos y productivos en transición y cebo y además se seleccionó una granja modelo para hacer un seguimiento de los serotipos presentes y de las lesiones al sacrificio compatibles con pleuroneumonía. Se encontraron síntomas en un 40% de las granjas incluidas en el estudio. Las granjas sin síntomas tuvieron mejores rendimientos reproductivos y productivos en transición y cebo, lo que propició una reducción del coste de producción de entre 3-11 euros/cerdo sacrificado en las granjas asintomáticas. Se encontró la bacteria en un 78% de las muestras cuando se tiparon por serogrupo. Cuando se tiparon individualmente, el serotipo predominante fue el 7 (51%), seguido del 15 (22%) y el 4 y 5 (11%). Las cepas aisladas mostraron resistencias frente a penicilina, tetraciclina, oxitetraciclina y amoxicilina, principalmente, llegando a haber hasta 4 resistencias simultáneamente. En la granja G se encontraron el serotipo 7, 4 y 12 en el periodo 2017-2019, y hubo alguna diferencia en el número de resistencias en las cepas; en el año 2019 todas tenían al menos tres resistencias. Se encontraron lesiones de pleuritis compatibles con actinobacilosis en el 0,09-6,24%, con una estacionalidad evidente, siendo más prevalente en marzo y el periodo noviembre-enero. Al evaluar la bioseguridad se encontraron diferencias significativas en la puntuación obtenida por las granjas con y sin síntomas. El perfil obtenido para las granjas sintomáticas fue: una granja que introduce cerdas de reposición de más de un origen, donde los lechones enfermos recuperados vuelven al flujo, no se usa ni guantes ni botas ni ropa específica que no salga de la granja, no se hace todo dentro todo fuera por local, la limpieza es deficiente, tiene baja reposición y censo envejecido. Como consecuencia de la enfermedad, estas granjas tendrán una alta mortalidad en cebo, un índice de transformación alto y más de 4 dólares de medicación por cerdo; y además contarán con hospital. Con respecto a la bioseguridad interna, la granja tipo con sintomatología es una granja sin vallado perimetral y que por tanto permite el acceso a caminos y conductores a sus instalaciones, que no usa baños para las cerdas al

moverlas de un local a otro, que no tiene un tratamiento adecuado de cadáveres y que tiene granjas con otras especies en proximidad

7. Abstract

Abstract

Twenty farms have been selected in the main pig producing areas of Brazil. The criterion was that they had a positive serology against ApxIV. The presence of symptoms compatible with pleuropneumonia was determined, samples were taken to isolate the pathogen and it was serotyped by PCR. In addition, a biosafety audit was conducted, based on a traffic light system evaluating external, internal and containment biosecurity. The reproductive and productive parameters in transition and bait were taken and a model farm was also selected to monitor the serotypes present and the sacrificial lesions compatible with pleuropneumonia. Symptoms were found in 40% of the farms included in the study. The farms without symptoms had better reproductive and productive yields in transition and bait, which led to a reduction in the cost of production of between 3-11 euros / pig slaughtered in asymptomatic farms. The bacterium was found in 78% of the samples when the serogroup typing technique was used. When serotypes were typed individually, the predominant serotype was 7 (51%), followed by 15 (22%) and 4 and 5 (11%). The isolated strains showed resistance to penicillin, tetracycline, oxytetracycline and amoxicillin, mainly, reaching up to 4 resistances simultaneously. In farm G serotype 7, 4 and 12 were found in the 2017-2019 period, and there was some difference in the number of resistances in the strains; In 2019, they all had at least three resistances. Pleurisy lesions compatible with actinobacillosis were found in 0.09-6.24%, with an obvious seasonality, being more prevalent in March and the November-January period. When evaluating biosecurity, significant differences were found in the score obtained by farms with and without symptoms. The profile obtained for symptomatic farms was: a farm that introduces replacement sows of more than one origin, where the recovered sick piglets return to the flow, neither gloves nor boots nor specific clothing that does not leave the farm are not used, it is not It does everything inside everything outside the premises, the cleanliness is poor, it has low replacement and aged census. As a consequence of the disease, these farms will have a high mortality in bait, a high transformation rate and more than 4 dollars of medication per pig; and they will also have a hospital. With respect to internal biosecurity, the type farm with symptoms is a farm without perimeter fencing and therefore allows access to roads and drivers to its facilities, which does not use bristle baths when moving from one

place to another, which does not it has an adequate treatment of corpses and that it has farms with other species in proximity

8. Listado de Tablas y Figuras

LISTADO DE TABLAS

Tabla 1. Producción de toxinas por los diferentes serotipos de *A. pleuropneumoniae* 9

Tabla 2. Características bioquímicas de *A. pleuropneumoniae* 25

Tabla 3. Sensibilidad de los aislamientos de App frente a antibióticos, expresado como porcentaje de cepas sensibles.	31
Tabla 4. Aparición de antimicrobianos resistentes a <i>A. pleuropneumoniae</i> aislados de cerdos en varios países	32
Tabla 5. Resumen de las granjas incluidas en el estudio	48
Tabla 6. Agrupamiento de serotipos en las pruebas moleculares	63
Tabla 7. Identificación de signos clínicos respiratorios compatibles con pleuroneumonía contagiosa en las granjas estudiadas	73
Tabla 8. Estadísticos descriptivos para los parámetros reproductivos tomando el conjunto de datos.....	76
Tabla 9. Estadísticos descriptivos para los parámetros reproductivos, segmentando por genética	78
Tabla 10. Estadísticos descriptivos para los parámetros en transición para todos los datos.....	81
Tabla 11. Estadísticos descriptivos para los parámetros en transición para todos los datos segmentando por genética.	81
Tabla 12. Estadísticos descriptivos para los parámetros en cebo para todos los datos	84
Tabla 13. Estadísticos descriptivos para los parámetros en cebo segmentando los datos por genética	85
Tabla 14. Coste de producción de lechón tomando todos los datos	89
Tabla 15. Coste de producción de lechón segregando por genética.	89
Tabla 16. Coste de producción de lechón tomando todos los datos	90
Tabla 17. Coste de producción de lechón segmentando por genética.....	90
Tabla 18. Prevalencia de App determinado mediante PCR	91
Tabla 19. Frecuencia de hallazgo de cada serotipo de forma individual	93
Tabla 20. Frecuencia de serotipos en algunos países	95
Tabla 21. Identificación del patógeno en las granjas estudiadas.....	97
Tabla 22. Identificación de serotipos en la granja G	100
Tabla 23. Resultados de sensibilidad a los antibióticos ensayados en las cepas aisladas.	105
Tabla 24. Frecuencia del número de resistencias simultáneas por serotipo	108
Tabla 25. Frecuencia del número de indiferencias simultáneas por serotipo	110
Tabla 26. Tabla de contingencia para las resistencias e indiferencias en conjunto por serotipo	112
Tabla 27. Tabla de contingencia con análisis de residuos corregidos para las resistencias a amoxicilina por serotipo.....	114

Tabla 28. Tabla de contingencia con análisis de residuos corregidos para las resistencias a doxiciclina por serotipo.....	115
Tabla 29. Tabla de contingencia con análisis de residuos corregidos para las resistencias a penicilina por serotipo.	116
Tabla 30. Patrones de resistencias en las cepas estudiadas	117
Tabla 31. Bajas en transporte y decomisos durante los años 2017 a 2019 en la granja G	122
Tabla 32. Índices estacionales para las bajas en transporte y los decomisos por pleuritis	124
Tabla 33. Evaluación (por puntos) del Semáforo de Bioseguridad (Área externa, interna y total).	128
Tabla 34. Evaluación estadística del semáforo de bioseguridad	129
Tabla 35. Tabla de contingencia para el riesgo <i>Entrada de vehículos en la granja</i>	132
Tabla 36. Tabla de contingencia para el riesgo <i>Bajada del conductor del vehículo</i>	133
Tabla 37. Tabla de contingencia para el riesgo <i>Proximidad de granjas con otras especies</i>	133
Tabla 38. Tabla de contingencia para el riesgo <i>Eliminación adecuada de los cadáveres</i>	134
Tabla 39. Tabla de contingencia para el riesgo <i>Práctica de baño de las cerdas</i>	134
Tabla 40. Tabla de contingencia para el riesgo <i>Control de plagas externas</i>	134
Tabla 41. Tabla de contingencia para el riesgo <i>Vallado perimetral</i>	135
Tabla 42. Tabla de contingencia para el riesgo <i>Mezcla de edades</i>	136
Tabla 43. Tabla de contingencia para el riesgo <i>Origen de la reposición</i>	137
Tabla 44. Tabla de contingencia para el riesgo Reintroducción de lechones recuperados	137
Tabla 45. Tabla de contingencia para el riesgo <i>Uso de guantes</i>	138
Tabla 46. Tabla de contingencia para el riesgo <i>Uso de botas</i>	138
Tabla 47. Tabla de contingencia para el riesgo <i>Uso de ropa</i>	139
Tabla 48. Tabla de contingencia para el riesgo <i>TD/TF por local</i>	139
Tabla 49. Tabla de contingencia para el riesgo <i>Limpieza correcta</i>	140
Tabla 50. Tabla de contingencia para el riesgo Flujo correcto de animales	140
Tabla 51. Tabla de contingencia para el riesgo Flujo correcto de animales	141
Tabla 52. Tabla de contingencia para el riesgo 20% cerdas más de 7 partos	141
Tabla 53. Análisis del riesgo (Odds ratio) para cada uno de los factores de bioseguridad externa	143
Tabla 54. Análisis del riesgo (Odds ratio) para cada uno de los factores de bioseguridad interna	146

LISTADO DE FIGURAS

Figura 1. Estados en los que se han evaluado granjas. 54

Figura 2. Distribución del sacrificio de cerdos en Brasil (EMPRAPA, 2018) 55

Figura 3. Toma de muestras en pulmón sospechoso..... 59

Figura 4. Escobillón de toma de muestras 61

Figura 5. Tipos de bioseguridad definidos y su relación con las granjas adyacentes (original del sistema Topigs-Norvins)..... 67

Figura 6. Definición de las zonas CAZ y RAZ de una granja (original del sistema Topigs-Norvins).
..... 68

Figura 7. Frecuencia de granjas con síntomas distribuida por estados 74

Figura 8. Parámetros reproductivos. A) Fertilidad, B) Lechones nacidos totales, C) Lechones nacidos vivos, D) Lechones destetados por camada, E) Mortalidad reproductoras, F) Lechones destetados/cerda/año, G) Peso al destete, H) Peso al destete. Media±SEM..... 77

Figura 9. Parámetros reproductivos A) Fertilidad, B) Lechones nacidos totales, C) Lechones nacidos vivos, D) Lechones destetados por camada, E) Mortalidad reproductoras, F) Lechones destetados/cerda/año, G) Peso al destete, H) Peso al destete. Segmentados por genética. La barra en color sólido son los datos de TOPIGS NORVINS y la barra con trama a la genética PIC. Media±SEM 80

Figura 10. Parámetros productivos en transición tomando todos los datos. A) Mortalidad en transición, B) Ganancia Media Diaria, C) Índice de transformación, D) Edad de traspaso a cebo, E) Peso Medio a la Entrada a Cebo. Media±SEM 82

Figura 11. Parámetros productivos en transición segmentando los datos por genética. A) Mortalidad en transición, B) Ganancia Media Diaria, C) Índice de transformación, D) Edad de traspaso a cebo, E) Peso Medio a la Entrada a Cebo. La barra de color sólido corresponde a TOPIGS NORVINS y la tramada a PIC. Medias±SEM 83

Figura 12. Parámetros productivos en transición tomando todos los datos. A) Edad Media al Sacrificio, B) Mortalidad, C) Ganancia Media Diaria, D) Índice de transformación, E) Duración Media del cebo, F) Peso Medio al Sacrificio, G) Coste de medicación por cerdo (\$). Media±SEM.
..... 86

Figura 13. Parámetros productivos en transición segmentando los datos por genética. A) Edad Media al Sacrificio, B) Mortalidad, C) Ganancia Media Diaria, D) Índice de transformación, E) Duración Media del cebo, F) Peso Medio al Sacrificio, G) Coste de medicación por cerdo (\$). Media±SEM. La barra de color sólido corresponde a TOPIGS NORVINS y la tramada a PIC. Media±SEM 87

Figura 14. Frecuencia de los serogrupos encontrados (n=139) 92

Figura 15. Prevalencia de serotipos individuales	94
Figura 16. Pulmones tomados como muestra para el aislamiento de <i>A. pleuropneumoniae</i> en matadero, procedentes de la granja G	104
Figura 17. Número de resistencias simultáneas por serotipo	109
Figura 18. Número de indiferencias simultáneas por serotipo.....	111
Figura 19. Número de resistencias+indiferencias por serotipo	113
Figura 20. Diagrama de cajas para las resistencias, indiferencias y resistencias +indiferencias simultáneas en una cepa.....	119
Figura 21. Principal motivo de decomiso, compatible con las lesiones producidas por <i>A. pleuropneumoniae</i>	121
Figura 22. Distribución anual de las bajas por transporte y los decomisos por pleuritis en la granja G	123
Figura 23. Correlación entre bajas de transporte y decomisos en matadero. A) Todos los datos. B) Eliminado un valor extremo.....	126
Figura 24. Puntuación total, desglosada en bioseguridad interna y externa obtenida por cada granja, dependiendo de la presencia/ausencia de síntomas clínicos	129
Figura 25. Diagrama de cajas para evaluación estadística entre Ausencia y Presencia de Signos Clínicos de Semáforo de Bioseguridad Externa.....	130
Figura 26. Diagrama de cajas para evaluación estadística entre Ausencia y Presencia de Signos Clínicos de Semáforo de Bioseguridad Interna.	130
Figura 27. Diagrama de cajas para evaluación estadística entre Ausencia y Presencia de Signos Clínicos do Semáforo de Bioseguridad Total.....	131

9. Referencias bibliográficas

REFERENCIAS

- AARESTRUP, F.M., DURAN, C.O., BURCH, D.G.S. Antimicrobial resistance in swine production. **Animal Health Res Revs.** 9, 135-148. 2008.
- ANGEN Ø, ANDREASEN M, NIELSEN, et al. Effect of tulathromycin on the carrier status of *Actinobacillus pleuropneumoniae* serotype 2 in the tonsils of pigs. **Vet Rec.** 163, 445–447. 2008
- AUGER, E., DESLANDES, A., RAMJEET, M., et al. Host-pathogen interactions of *Actinobacillus pleuropneumoniae* with porcine lung and tracheal epithelial cells. **Infect Immun.** 77, 1426-1441. 2009.
- AUGUSTIJN, M., STOCKHOFE-ZURWIEDEN N., NIELEN M., et al. The etiology of chronic pleuritis in pigs: a clinical, pathological and serological study. **Proceedings of the 20th Congress of the International Pig Veterinary Society**, Durban. OR.05.12. 2008
- BARCELLOS, D. E. S. N., MARQUES, B. M. F. P, MORES, T. J., COELHO, C. F., BOROWSKI, S. M. Practical aspects on the use of antimicrobials in pig production. **Acta Scientiae Veterinariae**, 37, s151-s155, 2009.
- BECK, M., VAN DEN BOSCH, J., JONGENELEN, I. et al. RTX toxin genotypes and phenotypes in *Actinobacillus pleuropneumoniae* field strains. **J Clin Microb.** 32, 2749-2754. 1994.
- BERNARDO, T.M., DOHOO, I.R., DONALD, A. Effect of ascariasis and respiratory diseases on growth rates in swine. **Can J Vet Res**, 54, 278-284. 1990
- BERTSCHINGER, H.U., SEIFERT, A. Isolation of a *Pasteurella haemolytica*-like organism from porcine necrotic pleuropneumonia. **Proceedings of IPVS CONGRESS**, Zagreb, Yugoslavia. Abstract M.19. 1978
- BESKOW, H., NORQVIST, M., WALLGREN, A. Relationships between selected climatic factors in fattening units and their influence on the development of respiratory diseases in swine. **Acta Vet Scand.** 39, 49-60. 1998.
- BLACKALL, J., KLAASEN, H., VAN DEN BOSCH, H. et al. Proposal of a new serovar of *Actinobacillus pleuropneumoniae*: serovar 15. **Vet Microb.** 84, 47-52. 2002.
- BOSSÉ, J.T., JANSON, H., SHEEHAN, B. et al. *Actinobacillus pleuropneumoniae*: pathobiology and pathogenesis of infection. **Microb Infect.** 4, 225-235. 2002.
- BOSSÉ, J.T., LI, Y., SÁRKÖZI, R., et al., Proposal of serovars 17 and 18 of *Actinobacillus pleuropneumoniae* based on serological and genotypic analysis. **Vet Microbiol.** 217, 1-6. 2018.
- BROGAARD, L., KLITGAARD, K., HEEGAARD, M. et al. Concurrent host-pathogen gene expression in the lungs of pigs challenged with *Actinobacillus pleuropneumoniae*. **BMC Genomics.** 16, 417. 2015.
- BUENO, L.S., CALDARA, F.R., NÄÄS, I.A., et al. Swine Carcass Condemnation in Commercial Slaughterhouses. **Re MVZ Córdoba.** 18, 3836-3842. 2013.
- BYRD, W., HARMON, B.G., KADIS, S. Protective efficacy of conjugate vaccines against experimental challenge with porcine *Actinobacillus pleuropneumoniae*. **Vet Immunol Immunopathol.** 34, 307-324. 1992.
- CHANG, C.F., LIN-CHU, C., CHEN Y.F, et al. Antimicrobial Susceptibility of *Actinobacillus Pleuropneumoniae*, *Escherichia Coli*, and *Salmonella Choleraesuis* Recovered from Taiwanese Swine. **J Vet Diagnost Invest.** 14. 153-7. 2002b.
- CHATELLIER, S., HAREL, J., DUGOURD, D. et al. Genomic relatedness among *Actinobacillus pleuropneumoniae* field

strains of serotypes 1 and 5 isolated from healthy and diseased pigs. **Can J Vet Res.** 63, 170-176. 1999.

CHIEN, M., CHAN, Y., CHEN, Z. *et al.* *Actinobacillus pleuropneumoniae* serotype 10 derived Apxl induces apoptosis in porcine alveolar macrophages. **Vet Microb.** 135, 327-333. 2009.

CHIERS, K., HAESBROUCK, F., VAN OVERBEKE, I. *et al.* Early *in vivo* interactions of *Actinobacillus pleuropneumoniae* with tonsils of pigs. **Vet Microb.** 68, 301-306. 1999.

CHIERS, K., DE WAELE, T., PASMANS, F., *et al.* Virulence factors of *Actinobacillus pleuropneumoniae* involved in colonization, persistence and induction of lesions in its porcine host. **Vet Res.** 41, 65. 2010.

CHRISTENSEN, N.H. Evaluation of the effects of enzootic pneumonia in pigs on weight gain and days to slaughter under New Zealand conditions. **N Z Vet J**, 43, 146-148. 1995

CLEVELAND-NIELSEN, A., NIELSEN, E.O., ERSBOLL, A.K. Chronic pleuritis in Danish slaughter pig herds. **Prev Vet Med.** 55, 121-135. 2002

COSTA, A.T.R., REIS, R., FERREIRA, H.B.C., REIS, F.T. Sorotipificação de *Actinobacillus pleuropneumoniae* isolados de lesões pulmonares de suínos. In: **Resumos do Congresso Brasileiro da ABRAVES**, Belo Horizonte. Minas Gerais: Ass. Bras. Vets. Espec. Suínos, 1999. 179-180. 1999

COSTA, A.T.R., REIS, R., FERREIRA, H.B.C. Isolamento e controle do *Actinobacillus pleuropneumoniae* (APP) sorotipo 10 de um surto de pleuropneumonia suína. In: **Resumos do Congresso Brasileiro da ABRAVES**, Goiânia. Goiás. 29-30. 2003

DAYAO, D.A., GIBSON, J.S., BLACKALL, J., TURNI, C. Antimicrobial resistance in bacteria associated with porcine

respiratory disease in Australia. **Vet Microbiol.** 171, 232-235. 2014a

DA SILVA, G.C., ROSSI, C.C., SANTANA, M.F., *et al.*, p518, a small floR plasmid from a South American isolate of *Actinobacillus pleuropneumoniae*. **Vet Microbiol.** 204, 129-132. 2017.

DAYAO, D.E., GIBSON, J., BLACKALL, J., *et al.* Use of a proposed method for antimicrobial susceptibility of *Haemophilus parasuis*. **Vet Microbiol**, 172, 586-589. 2014b

DE SOUZA, K.K.S., KLEINI, C.S., JALUSA DEON KICH, J.D., *et al.* Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) baseada no gene *cpx*, para detecção de *Actinobacillus pleuropneumoniae* em suínos natural e experimentalmente infectados. **Ciência Rural.** 38, 1954-1960. 2008.

DEL POZO SACRISTÁN, R., MICHIELS, A., *et al.* Efficacy of vaccination against *Actinobacillus pleuropneumoniae* in two Belgian farrow-to-finish pig herds with a history of chronic pleurisy. **Vet Rec** 174:302. 2014.

DESROSIERS, R., MOORE, C. Indirect transmission of *Actinobacillus pleuropneumoniae*. **J Swine Health Prod.** 6, 263-265. 1998.

DESROSIERS, R. Epidemiology, diagnosis and control of swine diseases. In: **Proceedings of the AASV Congress**. Des Moines. Iowa. 37. 2004.

DEWEY CE, HALEY C, WIDOWSKI T, *et al.* Factors associated with in-transit losses of fattening pigs. **Anim Welf.** 18, 355-61. 2009

DUBREUIL J.D., JACQUES M., MITTAL K.R., GOTTSCHALK M. *Actinobacillus pleuropneumoniae* surface polysaccharides: their role in diagnosis and immunogenicity. **Anim Health Res Rev.** 1, 73-93. 2000.

EMBRAPA (Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária). Acesso em 18/01/2019.

- EL GARCH, F., DE JONG, A, SIMJEE, S, et al. Monitoring of antimicrobial susceptibility of respiratory tract pathogens isolated from diseased cattle and pigs across Europe, 2009–2012: VetPath results 2016. **Vet Microbiol.** 194, 11-22. 2016.
- ENØE, C., MOUSING, J., SCHIRMER, A.L., WILLEBERG, A. Infectious and rearing-system related risk factors for chronic pleuritis in slaughter pigs. **Prev Vet Med** 54: 337–349. 2002
- FABLET, C., MAROIS-CRÉHAN, C., SIMON, G. *et al.* Infectious agents associated with respiratory diseases in 125 farrow-to-finish pig herds. **Vet Microb.** 157, 152-163. 2012.
- FALK K., HOIE S., LIUM B.M. An abattoir survey of pneumonia and pleuritis in slaughter weight swine from 9 selected herds. II. Enzootic pneumonia of pigs: microbiological findings and their relationship to pathomorphology. **Acta Vet Scand.** 32, 67–77. 1991
- FITTIPALDI, N, KLOPFENSTEIN, C, GOTTSCHALK, M, et al. Assessment of the efficacy of tilmicosin phosphate to eliminate *Actinobacillus pleuropneumoniae* from carrier pigs. **Can J Vet Res,** 69, 146–150. 2005.
- FOOTE, S.J., BOSSÉ, J.T., BOUEVITCH, A.B. *et al.* The complete genome sequence of *Actinobacillus pleuropneumoniae* L20 (serotype 5b). **J Bacter.** 190, 1495-1496. 2008.
- FRAILE, L., ALEGRE, A., LÓPEZ-JIMÉNEZ, R. *et al.* Risk factors associated with pleuritis and cranio-ventral pulmonary consolidation in slaughter-aged pigs. **Vet J.** 184, 326-333. 2010.
- FRANK, R., CHENGAPPA, M., OBERST, R. *et al.* Pleuropneumoniae biotype 2 in growing and finishing pigs. **J Vet Diagn Invest.** 4, 270-278. 1992.
- FREY, J., BOSSE, J.T., CHANG, Y.F. *et al.* *Actinobacillus pleuropneumoniae* RTX-toxins: uniform designation of haemolysins, cytolysins, pleurotoxin and their genes. **J Gener Microb.** 139, 1723-1728. 1993.
- FREY J, BECK M, VAN DEN B, et al. Development of an efficient PCR method for toxin typing of *Actinobacillus pleuropneumoniae* strains. **Mol Cell Probes.** 9, 277–282. 1995.
- FREY, J. Detection, identification and subtyping of *Actinobacillus pleuropneumoniae*. **Meth Molec Biol.** 216, 87-95. 2003.
- FREY, J. Toxina RTX – fatores de virulência específicos do hospedeiro do *Actinobacillus pleuropneumoniae*. **Revista Técnica Suínos & Cia.:** 38.ed., Campinas: T2D, p50. 2011.
- FUKUYASU, T., SAITO, K., ASHIDA, K. Serotypes and antimicrobial susceptibility of *Actinobacillus pleuropneumoniae* isolated from pigs with pneumonia. **J Jpn Vet Med Assoc.** 49, 528-532. 1996.
- FUSSING, A. Genomic relationships of *Actinobacillus pleuropneumoniae* serotype 2 strains evaluated by ribotyping, sequence analysis of ribosomal intergenic regions and pulsed-field gel electrophoresis. **Lett Appl Microbiol.** 27, 211-215. 1998.
- GAMBADE, A., MORVAN, H. *Actinobacillus pleuropneumoniae*. **Bull. des GTV Doss. Tech. Vets.** 12, 19-22. 2001.
- GOTTSCHALK, M., BROES, A., FITTIPALDI, N. Recent developments on *Actinobacillus pleuropneumoniae*. In: **Proceedings of the AASV Congress.** Orlando, Florida. Am. Assoc. Swine Vets. 387-393. 2003.
- GOTTSCHALK M, BROES A, MITTAL K, et al. Non-pathogenic *Actinobacillus* isolates antigenically and biochemically similar to *Actinobacillus pleuropneumoniae*: a novel species? **Vet Microbiol.** 92:87–101. 2003b.
- GOTTSCHALK, M. Atualização sobre *Actinobacillus pleuropneumoniae*

- (App)**Revista Técnica Suínos & Cia.** 41.ed., Campinas: T2D, 2011. 70
- GOTTSCHALK, M. *Actinobacillus pleuropneumoniae*, um patógeno ainda atual.**Revista Técnica Suínos & Cia:** 45.ed., Paulínia: Dsigns, 2012.
- GOTTSCHALK, M., LACOUTURE, S. *Actinobacillus pleuropneumoniae* serotypes 3, 6, 8 and 15 isolated from diseased pigs in North America. **Vet Rec.** 174, 452-453. 2014.
- GOTTSCHALK, M. The challenge of detecting herds sub-clinically infected with *Actinobacillus pleuropneumoniae*. **Vet J.** 206, 30-38. 2015.
- GOTTSCHALK, M., LACOUTURE, S. Distribution of *Streptococcus suis* (from 2012 to 2014) and *Actinobacillus pleuropneumoniae* (from 2011 to 2014) serotypes isolated from diseased pigs. **Cross-Can Diseas Re** 56, 1093-1094. 2015.
- GOTTSCHALK, M., LACOUTURE, S. Canada: distribution of *Streptococcus suis* (from 2012 to 2014) and *Actinobacillus pleuropneumoniae* (from 2011 to 2014) serotypes isolated from diseased pigs. **Can Vet J.** 56, 1093-1094. 2015.
- GOTTSCHALK, M, BROES, A. Actinobacillosis. En: **Diseases of Swine**, 11th Edition. Ed: Zimmerman et al. Iowa University Press. Pp: 749-766. 2019
- GOURÉ, J., FINDLAY, W.A., DESLANDES, A., et al. Microarray-based comparative genomic profiling of reference strains and selected Canadian field isolates of *Actinobacillus pleuropneumoniae*. **BMC Genoms.** 10, 88. 2009.
- GUTIÉRREZ, C.B., RODRÍGUEZ BARBOSA, J.I., SUÁREZ J., et al. Efficacy of a variety of disinfectants against *Actinobacillus pleuropneumoniae* serotype 1. **Am J Vet Res.** 56, 1025-9. 1995.
- GUTIÉRREZ-MARTIN, C.B., DEL BLANCO, N.G., BLANCO, M., et al. Changes in antimicrobial susceptibility of *Actinobacillus pleuropneumoniae* isolated from pigs in Spain during the last decade. **Vet. Microbiol.** v115, p218–222. 2006
- HÄLLI, O., ALA-KURIKKA, E., WALLGREN, A., HEINONEN, M. *Actinobacillus pleuropneumoniae* seroprevalence in farmed wild boars in Finland. **J Zoo Wildl Med.** 45 813–818. 2014.
- HALEY, C., DEWEY, C.E., WIDOWSKI, T., FRIENDSHIP, R. Relationship between estimated finishing-pig space allowance and in-transit loss in a retrospective survey of 3 packing plants in Ontario in 2003. **Can J Vet Res.** 74:178-84. 2010.
- HART, F., KILGORE, R., MEINERT, et al. Efficacy of tulathromycin in the treatment of respiratory disease in pigs caused by *Actinobacillus pleuropneumoniae*. **Vet Rec** 158, 433–436. 2006.
- HENDRIKSEN, R.S., MEVIUS, D.J., SCHROETER, A., Occurrence of antimicrobial resistance among bacterial pathogens and indicator bacteria in pigs in different European countries from year 2002–2004: the ARBAO-II study. **Acta Vet Scand.** 50, 19–27. 2008b.
- HEUVELINK, A.E., VAN HOUT, A.J., GONGGRIJP, M., Monitoring of antimicrobial susceptibility of swine respiratory pathogens in The Netherlands, 2012–2014. **Actas del 6th Symposium on Antimicrobial Resistance in Animals and the Environment (ARAE)**. Tours-Vinci, June 29–July 1 2015. Poster P34, 98. 2015.
- HOELTIG, D., HENNIG-PAUKA, I., THIES, K. et al. A novel Respiratory Health Score (RHS) supports a role of acute lung damage and pig breed in the course of an *Actinobacillus pleuropneumoniae* infection. **BMC Veterinary Res.** 5, 14. 2009.
- HOLMGREN, N., LUNDEHEIM, N., WALLGREN, A. Infections with *Mycoplasma*

- hyopneumoniae* and *Actinobacillus pleuropneumoniae* in fattening pigs. Influence of piglet production systems and influence on production parameters. **Zentralbl Veterinarmed B.** 46, 535-44. 1999.
- HSU, F. Evaluation of lincospectin sterile solution and Linco-Spectin 44 premix in the treatment of pleuropneumonia. **Proc Int Congr Pig Vet Soc** 11:15. 1990.
- HUNNEMAN, W.A. Incidence, economic effects, and control of *Haemophilus pleuropneumoniae* infections in pigs. **Vet Q.**, 8, p 83-87. 1986
- JACQUES, M. Surface polysaccharides and iron uptake systems in *Actinobacillus pleuropneumoniae*. **Can J Vet Res.** 68, 81-85, 2004.
- JACQUES, M., FOIRY, B., HIGGINS, R. *et al.* Electron microscopic examination of capsular material from various serotypes of *Actinobacillus pleuropneumoniae*. **J Bacteriology.** 170, 3314-3318. 1988.
- JÄGER, H.C., MCKINLEY, T.J., WOOD, J.L.N. *et al.* Factors associated with pleurisy in pigs: A Case-Control analysis of slaughter pig data for England and Wales. **PLoS One.** 7. e29655. 2012
- JANSEN R., BRIAIRE J., SMITH H.E., *et al.* Knockout mutants of *Actinobacillus pleuropneumoniae* serotype 1 that are devoid of RTX toxins do not activate or kill porcine neutrophils. **Infect Immun.** 63, 27-37. 1995
- JENSEN, A., BERTRAM, T. Morphological and biochemical comparison of virulent and avirulent isolates of *Haemophilus pleuropneumoniae* serotype 5. **Infect Immun.** 51, 419-424. 1986.
- JENSEN, T.K., BOYE, M., HAGEDORN-OLSEN, T. *et al.* *Actinobacillus pleuropneumoniae* osteomyelitis in pigs demonstrated by fluorescent *in situ* hybridization. **Vet Pathol.** 36, 258-261. 1999.
- JESSING, S. G., ANGEN Ø., INZANA, T. J. Evaluation of a Multiplex PCR Test for Simultaneous identification and serotyping of *Actinobacillus pleuropneumoniae*. **J Clin Microbiol.** 41, n. 9, 4095-4100. 2003.
- JOBERT, J.L., SAVOYE, C., CARIOLET, R. *et al.* Experimental aerosol transmission of *Actinobacillus pleuropneumoniae* to pigs. **Can J Vet. Res.** 64, 21-26. 2000.
- KILIAN, M. The haemolytic activity of *Haemophilus* species. **Acta Pathol Microbiol Scand.** 84, 339-341. 1976.
- KILIAN, M., NICOLET, J., BIBERSTEIN, E.L. Biochemical and serological characterization of *Haemophilus pleuropneumoniae* (Matthews and Pattison 1961) Shope 1964 and proposal of a neotype strain. **Intl J Syst Bacteriol.** 28, 20-26. 1978.
- KIM, B., MIN, K., CHOI, C., *et al.* Antimicrobial susceptibility of *Actinobacillus pleuropneumoniae* isolated from pigs in Korea using new standardized procedures. **J Vet Med Sci.** 63, 341-342. 2001
- KIM, B., HUR, J., LEE, J.Y. *et al.* Molecular serotyping and antimicrobial resistance profiles of *Actinobacillus pleuropneumoniae* isolated from pigs in South Korea. **Vet Q.** 36, 137-144. 2016.
- KLINKENBERG, D., TOBIAS, T.J., BOUMA, A. *et al.* Simulation study of the mechanisms underlying outbreaks of clinical disease caused by glycoprotein analysis of porcine bronchoalveolar lavage fluid reveals potential biomarkers corresponding to resistance to *Actinobacillus pleuropneumoniae* infection in finishing pigs. **Vet J.** 202, 99-105. 2014.
- KOYAMA, T., TO, H., NAGAI, S. Isolation of *Actinobacillus pleuropneumoniae* serovar 15-like strain from a field case of porcine pleuropneumonia in Japan. **J Vet Med Scien.** 69, 961-964. 2007.

- KRISTENSEN, C., ANDREASEN, M., ERSBØLL, A., et al. Antibody response in sows and piglets following vaccination against *Mycoplasma hyopneumoniae*, toxigenic *Pasteurella multocida*, and *Actinobacillus pleuropneumoniae*. **Can J Vet Res** 68:66–70. 2004a.
- KRISTENSEN, C., ANGEN, O., ANDREASEN, M., et al. Demonstration of airborne transmission of *Actinobacillus pleuropneumoniae* serotype 2 between simulated pig units located at close range. **Vet Microbiol** 98:243–249. 2004b.
- KUCEROVA, Z., JAGLIC, Z., ONDRIASOVA, R., et al. Serotype distribution of *Actinobacillus pleuropneumoniae* isolated from porcine pleuropneumonia in the Czech Republic during period 2003–2004. **Vet. Med.** 50, 355–360. 2005.
- KUCEROVA, Z., HRADECKA, H., NECHVATALOVA, K., NEDBALCOVA, K. Antimicrobial susceptibility of *Actinobacillus pleuropneumoniae* isolates from clinical outbreaks of porcine respiratory diseases. **Vet Microbiol.** 150, 203-206. 2011
- KUCHIISHI, S., FÁVERO, M.B.B., PIFFER, I.A. Sorotipos de *Actinobacillus pleuropneumoniae* isolados no Brasil de 1993 a 2006. **Acta Sci Vet.** 35, 79-82. 2007.
- LANCASHIRE, J.F., TERRY, T.D., BLACKALL, J., et al. Plasmid-encoded tetB tetracycline resistance in *Haemophilus parasuis*. **Antimicrob Agents Chemother** 49, 1927–1931. 2005
- LARSEN, H, HOGEDAHL, A., JORGENSEN, P., SZANCER, J. Eradication of *Actinobacillus pleuropneumoniae* from a breeding herd. **Proc Int Congr Pig Vet Soc** 11:18. 1990.
- LEBRUN, A., LACOUTURE, S., CÔTÉ, D., et al. Identification of *Actinobacillus pleuropneumoniae* strains of serotypes 7 and 4 using monoclonal antibodies: demonstration of common LPS O-chain epitopes with *Actinobacillus lignieresii*. **Vet Microb.** 65, 271-282. 1999.
- LEE, K.E., CHOI, H.W., KIM, H.H. et al. Prevalence and Characterization of *Actinobacillus pleuropneumoniae* Isolated from Korean Pigs. **J Bacteriol Virol.** 45, 19-25. 2015.
- LÉVESQUE, C., PROVOST, C., LABRIE, J., et al. *Actinobacillus pleuropneumoniae* possesses an antiviral activity against Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome virus. **PLoS One.** 9. e98434. 2014.
- LI Y., BOSSÉ J.T., WILLIAMSON S.M., et al. *Actinobacillus pleuropneumoniae* serovar 8 predominates in England and Wales. **Vet Rec** 179:276. 2016.
- LIU J.L., CHEN X., TAN C., et al., In vivo induced RTX toxin ApxIVA is essential for the full virulence of *Actinobacillus pleuropneumoniae*. **Vet Microbiol.** 137, 282–289. 2009
- MacINNES, J., GOTTSCHALK, M. LONE, A., et al. Prevalence of *Actinobacillus pleuropneumoniae*, *Actinobacillus suis*, *Haemophilus parasuis*, *Pasteurella multocida*, and *Streptococcus suis* in representative Ontario swine herds. **Can J Vet Res.** 72, 242-248. 2008.
- MADSEN, L.W., BOYE, M., JENSEN, T.K., et al. *Actinobacillus pleuropneumoniae* demonstrated *in situ* in exudative meningitis and nephritis. **Vet Rec.** 149, 746-747. 2001.
- MAES D.G., DELUYKER H., VERDONCK M., MIRY C., et al. Non-infectious factors associated with macroscopic and microscopic lung lesions in slaughter pigs from farrow-to-finish herds. **Vet Rec .** 148, 41-46. 2001.
- MAES, D.G., CHIERS, K., HESEBROUCK, F., et al. Herd factors associated with the seroprevalences of *Actinobacillus pleuropneumoniae* serovars 2, 3 and 9 in

slaughter pigs from farrow-to-finish pig herds. **Vet Res.** 32, 409-419. 2001

MAES D.G., CHIERS K., HAESEBROUCK F., et al. Seroprevalence of 175 *Actinobacillus pleuropneumoniae* serovars 2, 3 and 9 in slaughter pigs from Belgian fattening farms. **Vet Rec.** 151, 206-210. 2002.

MALDONADO, J., VALLS, L., MARTÍNEZ, E., RIERA, P. Isolation rates, serovars and toxin genotypes of nicotinamide adenine dinucleotide independent *Actinobacillus pleuropneumoniae* among pigs suffering from pleuropneumonia in Spain. **J Vet Diagn Invest.** 21, 854-857. 2009.

MAROIS, C., GOTTSCHALK, M., MORVAN, H., et al. Experimental infection of SPF pigs with *Actinobacillus pleuropneumoniae* serotype 9 alone or in association with *Mycoplasma hyopneumoniae*. **Vet Microb.** 135, 283-291. 2009.

MATTER, D., ROSSANO, A., LIMAT, S., et al. Antimicrobial resistance profile of *Actinobacillus pleuropneumoniae* and *Actinobacillus porcitoncillarum*. **Vet Microbiol.** 122, 146-156. 2007

ee 1 citation found by title matching your search:

MAUCH, C., BILKEI, G. *Actinobacillus suis*, a potential cause of abortion in gilts and low parity sows. **Vet J.** 168, 186-7. 2004

McGREGOR, G.F., GOTTSCHALK, M., GODSON, D.L. Disease risks associated with free-ranging wild boar in Saskatchewan. **Can Vet J.** 56, 839-844. 2015.

MERIALDI, G., DOTTORI, M., BONILAUDI, A., et al., Survey of pleuritis and pulmonary lesions in pigs at abattoir with a focus on the extent of the condition and herd risk factors. **Vet J.** 193, 234-9. 2012.

MØLLER, K., NIELSEN, R., ANDERSEN, L. et al. Clonal analysis of the *Actinobacillus pleuropneumoniae* population in a geographically restricted area by multilocus enzyme electrophoresis. **J Clin Microb.** 30, 623-627. 1992.

MORES, N., SOUZA, J.C. de A., NOGUEIRA, R.H.G. Estudo experimental da pleuropneumonia suína causada por *Haemophilus pleuropneumoniae* (Hpp). 1- Patogenicidade e evolução das lesões anátomo-patológicas. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, 36, 679-693. 1987.

MORÉS N., SANDI A.J., HICKMAN J.L. Impacto Econômico das Pleurites/Pericardites em um Abatedouro de Suínos. Comunicado técnico 545. EMPBRAPA. SSN 0100-8862 Versión electrónica. 2017.

MUÑOZ LUNA, A., GOMEZ, S., RAMIS, G. **Complejo Respiratorio Porcino**. Hipra. Edición. 1., 2006.

NERIA-RAMÍREZ, V., QUEZADA, M., CUBILLOS, R., RUIZ, A. Diversidad genética de cepas de *Actinobacillus pleuropneumoniae* (App) aisladas desde planteles de producción intensiva de cerdos en Chile. **Arch Med Vet.** 44, 129-135. 2012

NEUMANN, E.J. 2012. Disease transmission and biosecurity. In Zimmerman JJ, Kariker LA, Ramirez A, et al., eds., **Diseases of Swine**, 10th ed. Ames, IA: Wiley-Blackwell, p 141-164.

NICOLET, J. Surl'Hemophilose du porc III. Differentiation serologique de *Haemophilus paraahaemolyticus*. **Zbl Bakt I Abt Orig.** 216 487-495. 1971.

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

NIELSEN, R. Serological characterization of *Haemophilus pleuropneumoniae* (*Actinobacillus pleuropneumoniae*) strains and proposal of a new serotype: serotype 10. **Acta Vet Scand** 26:581-585. 1985c.

OHBA, T., SHIBAHARA, T., KOBAYASHI, H. et al. Multifocal granulomatous hepatitis caused by *Actinobacillus*

- pleuropneumoniae* serotype 2 in slaughter pigs. **J Comp Pathol.** 139, 61-66. 2008.
- OHBA, T., SHIBAHARA, T., KOBAYASHI, H. *et al.* Granulomatous lymphadenitis associated with *Actinobacillus pleuropneumoniae* serotype 2 in slaughter barrows. **Can Vet J.** 51, 733-737. 2010.
- O'NEILL, C., JONES, S.C.P., BOSSÉ, J.T. *et al.* Prevalence of *Actinobacillus pleuropneumoniae* serovars in England and Wales. **Vet Rec.** 23, 661-662. 2010.
- O'REILLY, T., NIVEN, D.F. Pyridine nucleotide metabolism by extracts derived from *Haemophilus parasuis* and *A. pleuropneumoniae*. **Can J Microbiol.** 32, n.9, 733-737, 1986.
- PARADIS, M.A., VESSIE H., MERRILL H.K., *et al.* Efficacy of tilmicosin in the control of experimentally induced *Actinobacillus pleuropneumoniae* infection in swine. **Can J Vet Res.** 68, 7-11. 2004.
- PARK, C, HA, Y, KIM, S, *et al.* Construction and characterization of an *Actinobacillus pleuropneumoniae* serotype 2 mutant lacking the Apx toxin secretion protein genes *apxIIIB* and *apxIIID*. **J Vet Med Sci** 71:1317–1323. 2009.
- PEARSON, H.E., TORIBIO, J.A., HERNANDEZ-JOVER, M. *et al.* Pathogen presence in feral pigs and their movement around two commercial piggeries in Queensland, Australia. **Vet Rec.** 174, 325. 2014.
- PEREIRA, M.F., ROSSI, C.C., DE CARVALHO, F.M. *et al.* Draft genome sequences of six *Actinobacillus pleuropneumoniae* serotype 8 Brazilian clinical isolates: insight into new applications **Geno Annou.** 3, 2015. pp: e01585-14. 2015.
- PÉREZ MÁRQUEZ, M., OCHOA, J.L., CRUZ, C. *et al.* Isolation of *Actinobacillus pleuropneumoniae* from layer hens showing clinical signs of infectious coryza. **Avian Diseases.** 58, 638-641. 2014.
- PIFFER, I.A., KLEIN, C., FÁVARO, M.B.B. Caracterização bioquímica e sorológica de amostras de *Actinobacillus pleuropneumoniae* isoladas no Brasil. **Arq Bras Med Veterinária e Zoot.** 49, 123-129. 1997.
- POHL, S., BERTSCHINGER, H., FREDERIKSEN, W., *et al.* Transfer of *Haemophilus pleuropneumoniae* and the *Pasteurella haemolytica*-like organisms causing porcine necrotic pleuropneumonia to the genus *Actinobacillus* (*Actinobacillus pleuropneumoniae* comb. no) on the basis of phenotypic and deoxyribonucleic acid relatedness. **Intl J Syst Bacteriol.** 33, 510-514. 1983.
- POL, J., LEENGOED, L., STOCKHOFE, N., *et al.* Dual infections of PRRSV/Influenza or PRRSV/*Actinobacillus pleuropneumoniae* in the respiratory tract. **Vet Microb.** 55, 259-264. 1997.
- PRIEBE, S., SCHWARZ, S. In vitro activities of florfenicol against bovine and porcine respiratory tract pathogens. **Antimicrob Agents Chemother.** v47, 2703–2705. 2003
- QUINN, J., MARKEY, K. B, CARTER, E. M. Microbiologia Veterinária e Doenças Infeciosas. Art Med editora, 138. 2011.
- RAMJEET, M., DESLNADES, V., GOURÉ, J., *et al.* *Actinobacillus pleuropneumoniae* vaccines: from bacterins to new insights into vaccination strategies. **Anim Health Res Rev** 9:25–45. 2008.
- RAYAMAJHI, N., SHIN, S. J., KAGN, S. G., LEE, D. Y., AHN, J. M., YOO, H. S. Development and use of a multiplex polymerase chain reaction assay base don Apx toxin genes for genotyping of *Actinobacillus pleuropneumoniae* isolates. **J Vet Diag Invest.** 17, 359-62. 2005.
- REGULA, G., SCHERBA, G., MATEUS-PINILLA, N.E., *et al.* The impact of endemic porcine reproductive and respiratory syndrome virus and other pathogens on

- reproductive performance in swine. **J Swine Health Prod.** 11, 13-18. 2003.
- REINER, G., FRESEN, C., BRONNERT, S. *et al.* Prevalence of *Actinobacillus pleuropneumoniae* infection in hunted wild boars (*Sus scrofa*) in Germany. **Europ J Wild Res.** 46, 551-555. 2010.
- RIOUX, S., GALARNEAU, C., HAREL, J. *et al.* Isolation and characterization of a capsule-deficient mutant of *Actinobacillus pleuropneumoniae* serotype 1. **Microb Pathog.** 28, 279-289. 2000.
- RITTER, M.J., ELLIS, M., BERRY, N.L., *et al.* Review: Transport losses in market weight pigs: I. A review of definitions, incidence, and economic impact. **Prof Anim Sci.** 25, 404-414. 2009
- ROBERTS, A.E., KRAGH, K.N., BJARNSHOLT, T. *et al.* The limitations of *in vitro* experimentation in understanding biofilms and chronic infection. **J Mol Biol.** 427, 3646-3661. 2015.
- RODRÍGUEZ I., BARIWNICK W., HELMUTH R., *et al.* Extended-spectrum β lactamases and AmpC β lactamases in ceftiofur-resistant *Salmonella enterica* isolates from food and livestock obtained in Germany during 2003-07. **J Antimicrob Chemother.** 64, 3013-3019. 2009
- ROSSI, C.R., VICENTE, A.M., GUIMARÃES, W., *et al.* **Face to face with *Actinobacillus pleuropneumoniae***: landscape of the distribution of clinical isolates in Brazil. **Afric J Microb Res.** 7, 2916-2924. 2013.
- RUBIES X., KIELSTEIN A., COSTA L., *et al.* Prevalence of *Haemophilus parasuis* serovars isolated in Spain from 1993 to 1997. **Vet Microbiol** 66: 245-248. 1999.
- SÁRKÖZI, R., MAKRAI, L., FODOR, L. Identification of a proposed new serovar of *Actinobacillus pleuropneumoniae*: serovar 16. **Acta Vet. Hung.** 63, 444-450. 2015.
- ŠATRÁN, P., NEDBALCOVÁ, K. Prevalence of serotypes, production of Apx toxins, and antibiotic resistance in strains of *Actinobacillus pleuropneumoniae* isolated in the Czech Republic. **Vet Med.** 47, 92-98. 2002
- SCHALLER, A., KUHN, R., KUHNERT, A., *et al.* Characterization of Apx IVA, a new RTX determinant of *Actinobacillus pleuropneumoniae*. **Microbiology.** 145, 2105-2116. 1999.
- SHOPE, R.E. Porcine contagious pleuropneumonia. I - Experimental transmission, etiology and pathology. **J Exp Med.** 119, 357-368. 1964.
- SHOPE, R. E., WHITE, D. C., LEIDY, G. Porcine contagious pleuropneumonia. II. Studies of the pathogenicity of the etiological agent *Haemophilus pleuropneumoniae*. **J Exp Med.** 119, 369-375. 1964.
- SIROIS, M., LEMIRE, E.G., LEVESQUE, R.C. Construction of a DNA probe and detection of *Actinobacillus pleuropneumoniae* by using polymerase chain reaction. **J Clin Microbiol.** 29, 1183-1187. 1991.
- SJÖLUND, M., de la FUENTE, A., FOSSUM, C., *et al.* Responses of pigs to a re-challenge with *Actinobacillus pleuropneumoniae* after being treated with different antimicrobials following their initial exposure. **Vet Rec** 164:550-555. 2009.
- SJÖLUND, M., WALLGREN, A. Field experience with two different vaccination strategies aiming to control infections with *Actinobacillus pleuropneumoniae* in a fattening pig herd. **Acta Vet Scand.** 52, 23. 2010.
- STYGAR A.H., NIEMI J.K., OLIVIERO C., *et al.* Economic value of mitigating *Actinobacillus pleuropneumoniae* infections in pig fattening herds. **Agricultural Systems.** 144, 113-121. 2016.

- THEVENON, J., IVOC, M., ROZSNYAY, Z., et al. Coglapix, an *Actinobacillus pleuropneumoniae* inactivated vaccine induce high levels of anti-Apx and anti-capsular antibodies. **Proc Eur Symp Porc Health Manag** 6, 245. 2014.
- THOMSON, J.R., BELL, M.N., RAFFERTY, A. Efficacy of some disinfectant compounds against porcine bacterial pathogens. **Pig J**, 60, 15-25. 2007.
- TOBIAS, T.J., BOUMA, A., VAN DEN BROEK, J. et al. Transmission of *Actinobacillus pleuropneumoniae* among weaned piglets on endemically infected farms. **Prev Vet Med**. 117, 207-214. 2014.
- TOBIAS, T.J., KLINKENBERG, D., BOUMA, A. et al. A cohort study on *Actinobacillus pleuropneumoniae* colonisation in suckling piglets **Prev Vet Med**. 114, 223-230. 2014.
- TORRES, M.I.P., BRUGUERA, S.D., SEDANO, S.A., et al. Serotype distribution of *Actinobacillus pleuropneumoniae* in the Philippines. Proceedings del 20º Congrso de la IPVS. Durban, Sudáfrica. P.16-05, p. 239
- TAYLOR, D. J. Pig Diseases, 9 edition, 217–221. 2013.
- UTRERA, A., DEL CASTILLO, S. Pleuropneumonia suína – *Actinobacillus pleuropneumoniae* (App)**Revista Técnica Suínos & Cia**:. 16.ed., Campinas: E C S, p 62. 2006.
- VÁDUVA, I. Characterization of some NAD-independent *Actinobacillus pleuropneumoniae* strains. **Lucr Stiin Medic Vet**. 43. 2010.
- VAN OVERBEKE, I., CHIERS, K., CHARLIER, G. et al. Characterization of the *in vitro* adhesion of *Actinobacillus pleuropneumoniae* to swine alveolar epithelial cells, **Vet Microb**. 88, 59-74. 2002.
- VAN DEN BOSH, H., FREY, J. Interference of outer membrane protein PalA with protective immunity against *Actinobacillus pleuropneumoniae* infections in vaccinated pigs. **Vaccine**. 21, 3601–3607. 2003.
- VAN DIXHOORN, I.D., REIMERT, I., MIDDELKOOP, J., et al. Enriched Housing Reduces Disease Susceptibility to Co-Infection with Porcine Reproductive and Respiratory Virus (PRRSV) and *Actinobacillus pleuropneumoniae* (*A. pleuropneumoniae*) in Young Pigs. **PLoS One** 11, e 0161832. 2016
- VENGUST, G., VALENCAK, Z., BIDOVEC, A. A serological survey of selected pathogens in wild boar in Slovenia. **J Vet Med B Infect Dis Vet Publ Health**, 53, 24-7. 2006
- VOSLAROVA, E., VECEREK, V., PASSANTINO, A., et al., Transport losses in finisher pigs: impact of transport distance and season of the year. **Asian-Australas J Anim Sci**. 30, 119-124. 2017.
- VIGRE, H., ANGEN, O., BARFOD, K. et al. Transmission of *Actinobacillus pleuropneumoniae* in pigs under field-like conditions: emphasis on tonsillar colonisation and passively acquired colostral antibodies. **Vet Microbiol**. 89, 151-159. 2002.
- VIGRE, H., ERSBOLL, A., SORENSEN, A. Decay of acquired colostral antibodies to *Actinobacillus pleuropneumoniae* in pigs. **J Vet Med B Infect Dis Vet Publ Health**. 50, 430-435. 2003.
- WANG, C., WANG, Y., SHAO, M., et al. Positive role for rApxIVN in the immune protection of pigs against infection by *Actinobacillus pleuropneumoniae*. **Vaccine**. 27, 5816-21. 2009.
- WARD, C.K., INZANA, T.J. Resistance of *Actinobacillus pleuropneumoniae* to bactericidal antibody and complement is mediated by capsular polysaccharide and blocking antibody specific for lipopolysaccharide, **J Immunol**. 153, 2110-2121. 1994.

WARRISS, P.D. Guidelines for the handling of pig ante-mortem: interim conclusion from EC-AIR3-project CT920262. **Landbauforsch Volk S166**, 217-25. 1996

WARRISS, P.D. The welfare of slaughter pigs during transport. **Anim Welf.** 7, 365-81. 1998

WILSON, M.R., TAKOV, R., FRIENDSHIP, R.M., et al. Prevalence of respiratory diseases and their association with growth rate and space in randomly selected swine herds. **Can J Vet Res**, 50, 209-216. 1986

XU, Z., ZHOU, Y., LI, L., et al. Genome biology of *Actinobacillus pleuropneumoniae* JL03, an isolate of serotype 3 prevalent in China. **PLoS One.** 3, e1450. 2008.

ZHAN, B., ANGEN, Ø., HEDEGAARD, J. et al. Draft genome sequences of *Actinobacillus pleuropneumoniae* serotypes 2 and 6. **J Bacteriol.** 192, 5846-5847. 2010.

ZHANG, Y., TENNENT, J.M., INGRHAM, A., et al. Identification of type 4 fimbriae in *Actinobacillus pleuropneumoniae*. **FEMS Microbiol Lett.** 189:15–28. 2000.

ZHUANG, Q., BARFOD, K., WACHMANN, H., et al. Risk factors for *Actinobacillus pleuropneumoniae* serotype 2 infection in Danish genetic specific pathogen-free pig herds. **Vet Rec.** 160, 258-262. 2007.

ZIMMERMAN, J. 2003. Epidemiology and ecology. In Zimmerman JJ, Yoon, KJ, eds., PRRS Compendium, 2nd ed. Des Moines, IA, USA: **National Pork Board**, p 157–161. 2003

9. ANEXOS

1. BIOSEGURIDAD EXTERNA

El punto 1.1 se muestra relleno como ejemplo

1.1 Área externa	Puntuación	Criterios	Puntuación Obtenida	Observaciones
Distancia a otras granjas de cerdos	2	> 10 km o sistema de filtro de aire	-2	
	0	5 a 10 km		
	-2	0 a 5 km		
Distancia a carretera con transporte de cerdos	2	> 3 km o sistema de filtro de aire	-2	
	0	1 a 3 km		
	-2	0 a 1 km		
Estado sanitario de las granjas de cerdos más cercanas	2	Estado más alto o distancia de otras granjas > 10 km	-2	
	0	Mismo estado sanitario		
	-2	Estado desconocido o inferior		
Barreras naturales	2	Barreras naturales alrededor de la granja (bosque / relieve)	2	
	0	Valla viva de protección		
	-2	Sin barrera natural y campo abierto alrededor		
Distribución de purines procedentes de otras granjas de cerdos	2	>1 km de granjas vecinas	2	
	0	< 1km y > 500 m de granjas vecinas		
	-2	< 500 m de granjas vecinas		
Perímetro del área limpia (vallado periférico)	2	Carretera alrededor y protección vegetal controlada	2	
	0	Protección vegetal controlada y sin carretera alrededor		
	-2	Vegetación alrededor sin control		
Identificación del área de acceso controlado (CAZ)	2	Área bien identificada (por ejemplo, cercas, portones, señalización)	2	Puede mejorar
	0	Delimitación del área pero NO bien identificada (por ejemplo, cercas, portones, señalización)		
	-2	Área no identificada		
Área de acceso controlado (CAZ)	2	Puertas cerradas y cerradas, con placa de restricción de entrada, con timbre o interfono.	2	
	0	as puertas se cierran en determinados períodos (por ejemplo, por la noche), con o sin placa de restricción de entrada , timbre o interfono		
	-2	Sin puertas o portones abiertos , in tarjeta de restricción de entrada, con o sin timbre o interfono.		
Área de acceso Restringido (RAZ)	2	RAZ cercada, con señalización y portones siempre cerrados	2	
	0	RAZ cercada, con señalización, pero portones no están siempre cerrados		
	-2	RAZ no señalizada y / o portones siempre abiertos		
Estacionamiento de vehículos	2	Fuera del perímetro del área de acceso controlado (CAZ)	2	
	-2	Dentro del perímetro del área de acceso controlado (CAZ)		
1.1 Área Externa - Total			8	

1.2 Introducción de animales nuevos/cuarentena	Puntuación	Criterios	Puntuación Obtenida	Observaciones
¿Se informa al veterinario responsable antes de cualquier introducción de animales?	2	Si	2	
	-2	No		
Si el rebaño se cerró para todas las fases: madres, transición, recría y engorde, etc., tendrá una puntuación "2" para cada una de las siguientes preguntas.				
¿Tiene nave de cuarentena?	2	Si	2	
	-2	No		
Si hay una cuarentena presente, responder a las preguntas restantes abajo. Si no hay presencia de cuarentena y la entrada de animales en la granja es directa, todas las notas para las demás preguntas serán "-2".				
Barrera sanitaria	2	Barrera sanitaria cerrada (separación bien definida), limpia y desinfectada diariamente . Los visitantes adoptan los procedimientos adecuados en la barrera.	2	
	0	Barrera sanitaria cerrada (separación bien definida), limpia y desinfectada pero NO diariamente . Los visitantes adoptan los procedimientos adecuados en la barrera		
	-2	Sin barrera sanitaria		
Transporte de los animales hasta la cuarentena	2	Transporte TN dedicado , siguiendo protocolos TN, con transbordo interno si es necesario	2	
	0	Transporte TN no dedicado , siguiendo protocolos TN, con transbordo interno si es necesario		
	-2	Transporte TN no siguiendo protocolos T		
Protocolos para conductores	2	Los conductores siguen los protocolos TN , como uso de uniformes, EPIs y restricción de acceso a la RAZ	2	
	-2	Los conductores no siguen los protocolos TN , como uso de uniformes, EPIs y restricción de acceso a la RAZ		
Sellado o inspección de desinfección de vehículos	2	Los sellos o inspecciones de desinfección de los vehículos se observan / validan antes del desembarque de los animales	-2	
	-2	Los sellos o inspecciones de desinfección de los vehículos no se observan / validan antes del desembarque de los animales		
Protocolos de exámenes en cuarentena	2	Los protocolos de exámenes son revisados anualmente y aprobados por TN	2	
	-2	No se realizan pruebas, sólo evaluación clínica de los animales		
Origen de los reproductores para reposición	2	Reproductores siempre del mismo origen	0	
	0	Diferentes orígenes, pero todos con el		

		mismo estado sanitario		
	-2	Diferentes orígenes y diferente estado sanitario		
Transporte de los animales desde la cuarentena hasta la granja	2	Transporte dedicado , vehículo lavado, desinfectado, seco, siguiendo los protocolos TN y usado solamente para transferencia de la cuarentena	0	
	0	Transporte dedicado , vehículo lavado, desinfectado, seco, siguiendo los protocolos TN y usado para otras categorías de animales solamente para esta granja		
	-2	Transporte NO dedicado , vehículo lavado, desinfectado, seco, siguiendo los protocolos TN y usado para otras granjas		
Lugar de lavado del vehículo tras la descarga en la cuarentena	2	El camión es lavado en el área de limpieza designada en la granja o en el local aprobado por TN	2	
	-2	El camión no es lavado en un lugar aprobado por TN		
Procedimientos de descarga de animales por el conductor	2	El conductor no entra en la RAZ	2	
	-2	El conductor entra en la RAZ		
Procedimientos después de la carga / descarga de los animales de la cuarentena	2	El área de carga es limpia y desinfectada, el agua de lavado no entra en la RAZ	2	
	0	El área de carga es limpia y desinfectada, el agua de lavado entra en la RAZ		
	-2	El área de carga no está limpia y desinfectada		
Uso de animales centinelas en la cuarentena, procedentes de la granja de destino	2	Los centinelas se alojan al mismo tiempo en la cuarentena o no se utilizan centinelas	2	
	-2	Los centinelas se alojan después del inicio de la cuarentena		
Flujo de manejo de cuarentena	2	Manejo todo dentro-todo fuera, procedimientos de limpieza, desinfección y secado antes de la entrada del próximo lote	2	
	0	Manejo todo dentro-todo fuera, procedimientos de limpieza, desinfección, pero sin secado antes de la entrada del próximo lote		
	-2	Sin todo dentro-todo fuera, limpieza y desinfección entre los lotes de cuarentena		
Funcionarios para el manejo en cuarentena	2	Funcionarios específicos de cuarentena	2	
	0	Funcionarios de la granja de destino manejan la cuarentena, al final del turno de trabajo, sin retornar a la granja el mismo día		
	-2	Funcionarios de la granja de destino manejan la cuarentena, a cualquier hora del día y regresan a la granja el mismo día		
Almacenamiento y uso de los efluentes	2	Lugar de inventario y uso de los desechos separados de la granja	2	
	-2	No hay separación del lugar de stock y de uso de los desechos del local de la		

		granja		
Monitoreo de enfermedades durante la cuarentena	2	Signos clínicos y serología siguiendo los protocolos TN	2	
	0	Sólo signos clínicos, sin serología		
	-2	No hay monitoreo		
Período de cuarentena	2	Protocolo TN:> 28 días	2	
	0	> 21 días y <28 días		
	-2	<21 días: inaceptable		
Desinfección del área de transbordo de animales	2	El transbordo es lavado, desinfectado y seco a cada uso	2	
	0	Transbordo no es lavado, desinfectado y seco a cada uso		
	-2	Transbordo no tiene estructura para lavado y desinfección		
Destino del agua de lavado del cargador	2	El agua de lavado del cargador no entra en la RAZ	2	
	-2	Agua de lavado del cargador entra en la RAZ		
1.2 Introducción de nuevos animales / cuarentena - Total			32	

1.3 Visitantes	Score	Criterios	Puntuación	Observaciones
Restricciones de acceso para no personal de granja (ex. público en general, visitantes externos)	2	Sin acceso		
	0	Con acceso pero cumple vacío sanitario según protocolos TN		
	-2	No adoptan vacío sanitario y no hay protocolos de bioseguridad TN		
Contacto de personal con animales biungulados	2	Sin contacto con animales biungulados		
	0	Hay contacto con animales biungulados, pero sin contacto con otros cerdos		
Cuestionario de salud para personal y visitantes	2	Si personal y visitantes están enfermo completan un informe (cuestionario de salud) y reciben máscaras/ guantes para uso		
	-2	Si personal y visitantes están enfermo no completan un informe (cuestionario de salud) y no reciben máscaras/ guantes para uso		
Vacío sanitario de visitantes (proveedores de servicios)	2	Cumplen con protocolos TN		
	-2	No cumplen los protocolos TN		
Registro de visitantes (proveedores de servicio)	2	Todos los visitantes están registrados, incluso el último contacto con cerdos, los registros son mantenidos en la entrada da granja		
	-2	Los visitantes no son registrados, no hay informaciones de último contacto con cerdos y/o no ha registros en la entrada de		

		granja		
Objetos personales dentro de RAZ	2	Los objetos personales no entran en RAZ (gafas son lavados o pasan por UV)		
	0	Objetos personales en la entrada son empaquetada, desinfectada y autorizada por el gerente de la granja		
	-2	Objetos personales entran en la RAZ sin inspección y aprobación de gerente		
Bioseguridad de acceso	2	Barrera sanitaria cerrada (separación bien definida), limpia y desinfectada diariamente. Los visitantes adoptan procedimientos de barrera adecuados.		
	0	Barrera sanitaria cerrada (separación bien definida), No limpia y desinfectada diariamente. Los visitantes adoptan procedimientos de barrera adecuados.		
	-2	No hay barrera sanitaria		
Procedimientos de baño	2	Todas las personas (personal y visitantes) se duchan en entrada y salida de la granja.		
	0	Solamente visitantes se duchan en la entrada y salida de la granja, personal no se duchan.		
	-2	Visitantes y personal No se duchan en la granja		
Limpieza de la área de baño	2	Limpia y desinfecta semanalmente		
	0	Limpia y desinfecta mensualmente		
	-2	No hay regular limpieza y desinfección		
Ropas para visitantes	2	Uso de ropas específicas de granja en la RAZ, incluyendo ropas interior y calzados		
	0	Uso de ropas específicos de granja en la RAZ, incluido calzados, pero ropas interior es de propio visitante		
	-2	Uso de ropas de propio visitante en la RAZ, solamente uso mono y calzas.		
Acompañamiento de visitantes	2	Visitantes siempre acompañados por personal de la granja o de TN		
	0	Visitantes no siempre están acompañados por una persona de granja o alguno de TN, pero con un buen conocimiento de la granja (por ejemplo, veterinario)		

	-2	Visitantes sin acompañamiento por personal de granja o de TN		
Higiene de las manos de la granja a oficina	2	Todos lavan las manos con agua e jabón (o un desinfectante para la manos) y usan guantes en la granja		
	0	Todos lavan las manos con agua y jabón (o un desinfectante para las manos) pero no usan guantes en la granja		
	-2	No lavan las manos con agua y jabón (o un desinfectante para las manos) y no usan guantes ni la granja		
Alimento de personal de la granja	2	La comida entra en la granja conforme normas de bioseguridad y es consumido en refectorio. No se lleva o consumen comida cerca de los animales. Carne cruda no es permitida.		
	0	La comida entra en la granja fuera de las normas de bioseguridad pero es consumido en comedir. No si lleva comida o consume cerca de los animales. Carne cruda no es permitida.		
	-2	No hay restricciones para entrada de comida en la RAZ y no hay restricciones de local donde se consume		

1.3 Visitantes - Total	0
------------------------	---

1.4 Alimentación de animales	Score	Criterios	Puntuación	Observaciones
Localización de los silos de ración	2	Silos de ración fuera de CAZ		
	0	Silos están en CAZ, camiones de ración entran en CAZ y el conductor cumple con los protocolos TN y usan botas descartables		
	-2	Silos están dentro de CAZ, camiones de pienso entra en CAZ e conductor NO cumple con el protocolos TN (no usan botas descartables)		
Protocolos de desinfección	2	Camiones de pienso se lavan y limpian, desinfectan y secan. Cumplen vacío sanitario conforme protocolo TN o no entra en CAZ		
	0	Camiones es lavado y desinfectado completamente pero no cumple vacío sanitario		
	-2	No ha lavado/desinfección y vacío sanitario		

Capacitación sobre transporte de piensos sobre el estado de salud y protocolos	2	Los transportadores de ración son capacitados sobre el estado de salud de las granjas y cumplen las exigencias de bioseguridad de protocolo TN		
	0	Los transportadores de pienso son capacitados sobre el estado de salud de las granjas pero NO cumplen las exigencias de bioseguridad de protocolo TN		
	-2	Los transportadores de pienso NO están capacitados sobre el estado de salud de las granjas y No cumplen protocolos TN		
Auditoria da la fábrica de pienso	2	Realizado		
	-2	No realizado		
Procedimientos cuando el empleado accede al silo de pienso	2	Empleado sale de la RAZ pela barrera sanitaria de la granja, según protocolos TN		
	0	Empleados sale de RAZ solamente con troca de ropas y bota		
	-2	Empleado sale de RAZ y retornan con la misma ropa y botas		
Origen de ingredientes de las raciones	2	Ingredientes de origen animal (cerdos o ganado) no son usados en la granja y fábrica de pienso		
	0	Ingredientes de origen animal (porcino o bovino) no se usan en la granja pero si usa en raciones y otras raciones de la fabrica		
	-2	Ingredientes de origen animal (cerdos y/o ganado) son utilizados en la granja y en la fábrica de pienso.		

1.4 Alimentación de los animales - Total	0
--	---

1.5 Abastecimiento de agua	Score	Criterios	Puntuación	Observaciones
Calidad de la agua	2	Suministro de agua potable a los animales o tratamiento adecuado del agua (ósmosis inversa, cloro, etc.)		
	0	Pozo artesiano de buena calidad con agua adecuada para cerdos, monitoreado dos veces al año pero sin tratamiento de agua.		
	-2	Pozo artesiano pero sin monitoreo de agua		

Pozo artesiano	2	Pozo artesiano protegido para tráfico accidental de vehículos, sellado para prevención de roedores y entrada de agua superficial (si el agua no proviene del pozo, seleccione "2")	
	-2	El pozo artesiano NO está protegido para el tráfico accidental de vehículos, SIN sello de prevención de roedores y entrada de agua superficial	

1.5 Abastecimiento de agua - Total	0
------------------------------------	---

1.6 Tratamiento y distribución de purines.	Score	Criterios	Puntuación	Observaciones
Acceso al almacenamiento de purines	2	Entrada separada al almacenamiento de purines		
	0	La entrada principal de la granja se utiliza para acceder a la ubicación de almacenamiento de purines, los empleados están conscientes y adoptan medidas de bioseguridad.		
	-2	La entrada principal de la granja se utiliza para acceder a la ubicación de almacenamiento de purines y los empleados no siguen las medidas de bioseguridad.		
Lugar de distribución de purines.	2	Distribución fuera de CAZ		
	0	Acceso por interior de CAZ		
	-2	Distribución por interior de CAZ		
Contacto del lugar de almacenamiento con animales.	2	No ha contacto		
	-2	Contacto posible		
Cobertura de ubicación de almacenamiento de los purines	2	Ha cubierta		
	0	No ha cubierta		

1.6 Tratamiento y distribución de purines - Total	0
---	---

1.7 Introducción de semen: si no hay introducción de semen en la granja, seleccione "2"	Score	Criterios	Puntuación	Observaciones
---	-------	-----------	------------	---------------

Origen de semen - Estado sanitario	2	Solo reciba semen de plantas con un estado sanitario igual o superior		
	0	Recibe semen de plantas con un estado de salud inferior y adopta medidas de monitoreo y bioseguridad al recibirlo		
	-2	Recibe semen de plantas con un estado sanitario más bajo y NO adopta medidas de monitoreo y bioseguridad al recibirlo		
Prueba de diagnóstico de enfermedades (principalmente para cuarentena y central)	2	Pruebas de diagnóstico completas y aprobadas TN		
	-2	No realiza pruebas de diagnósticos aprobados TN		
Pruebas de PRRS	2	Semen no es utilizado hasta confirmación de pruebas negativas		
	0	Semen ocasionalmente es utilizado antes de confirmación de pruebas negativas		
	-2	Semen es utilizado antes de la confirmación de pruebas negativas		
Entrega de semen	2	La entrega de semen es realizada fuera de CAZ. La caja de transporte de semen permanece fuera de RAZ		
	0	La entrega de semen es realizada en interior de CAZ. La caja de transporte de semen permanece fuera de RAZ		
	-2	La entrega de semen es realizada en interior de CAZ o RAZ. La caja de transporte de semen entra en RAZ		
Entrada de semen en RAZ	2	Usando dos paquetes, el paquete externo se retira y el paquete interno de semen se desinfecta cuando se inserta el semen en el RAZ.		
	-2	No se utilizan dos paquetes. El paquete de semen no se desinfecta cuando el semen entra en RAZ		

1.7 Introdujo de semen - Total

0

1.8 Introducción de materiales y medicamentos	Score	Críterios	Puntuación	Observaciones
Origen de los materiales	2	Origen de fuente limpia y segura con prácticas de protocolos de bioseguridad son conocidos , o directamente de fábrica o distribuidor habilitado. Los materiales son desinfectados para entrar en RAZ		
	0	Origen de fuente limpia y los protocolos de bioseguridad NO son conocidos . Los materiales son desinfectados para entrar en RAZ		
	-2	Origen de fuentes desconocidas u otras granjas. Los materiales NO son desinfectados para entrar en RAZ		
Entrada de embalaje externo en RAZ	2	Las embalajes externos son removidos y no entran en RAZ e en fumigador		
	-2	El embalaje externo NO se retira y entra en RAZ y fumigador		
Desinfección de materiales y medicamentos (fumigación, desinfección, UV)	2	Todos los materiales son fumigados		
	0	Materiales NO son fumigados, pero son desinfectados antes de entrar en RAZ		
	-2	Materiales NO son fumigados o desinfectados para entrar en RAZ		
Materiales veterinarios, equipos y herramientas de mantenimiento	2	Todos materiales veterinarios, equipos y las herramientas de mantenimiento se mantienen dentro de la granja		
	0	Se presentan a RAZ después del lavado, desinfectado y vacío, con la aprobación del gerente de la granja.		
	-2	Se introducen sin autorización y supervisión específica		
Repuestos esenciales para equipos técnicos.	2	Las piezas de repuesto esenciales para el equipo técnico están en stock en la granja, o son directas de fábrica, no hay contacto posible con otros cerdos. Hay buena planificación e inventario de materiales en la granja.		
	0	Las piezas de repuesto solo se introducen después desinfectan (UV, alcohol, desinfectante) y del vacío sanitario y se, hay una buena planificación y existencias de materiales.		

	-2	Las piezas de repuesto no están en stock en la granja y deben enviarse inmediatamente sin precaución, sin planificación, sin inventario de materiales en granja.		
--	----	--	--	--

1.8 Introducción de materiales y medicamentos - Total	0
---	---

1.9 Transporte de animales	Score	Criterios	Puntuación	Observaciones
Protocolos de transporte	2	Los vehículos de transporte siguen protocolos TN y vacío sanitario. Son lavados, desinfectados y secados. Los vehículos son inspeccionados por terceros antes y después de la desinfección y sellados.		
	0	Los vehículos de transporte siguen los protocolos TN y cumplen vacío sanitario, son lavados, desinfectados y secados. Los vehículos se inspeccionan antes de cargar.		
	-2	Los vehículos de transporte NO siguen los protocolos TN y vacío sanitario. Solamente es lavado y desinfectado. Los vehículos NO se inspeccionan antes de cargar.		
Inspección sanitaria y sellado de vehículos de terceros.	2	Los sellos de vehículos de terceros se observan / revisan antes de cargar		
	-2	Los sellos de vehículos de terceros NO se observan / se revisan antes de cargar		
Protocolo de conductor	2	El conductor sigue los protocolos TN. Hacen cambio de botas y ropa a cada carga.		
	-2	El conductor no sigue los protocolos TN. Las botas y la ropa NO se cambian con cada carga.		
Procedimientos de embarque de reproductores	2	El personal de granja no ingresa al vehículo. Todos están capacitados, siguen protocolos TN y utilizan equipos para evitar que los animales reproductores regresen al RAZ		
	0	El personal de granja no ingresa al vehículo. Los empleados NO están capacitados, NO siguen protocolos TN o NO usan equipos para evitar que los animales reproductores		

		regresen al RAZ.		
	-2	El personal de granja si sube al vehículo. Los equipos no son usados para evitar que los animales reproductores regresen al RAZ		
Lugar de carga de animales	2	Hay un cargador separado para sacrificio de animales y reproductores.		
	0	Hay un cargador único para sacrificar animales y reproductores.		
Desinfección del área de transbordo de animales	2	Transbordo es lavado, desinfectado e secado a cada uso		
	0	Transbordo no es lavado, desinfectado e secado a cada uso		
	-2	Transbordo no tiene estructura para lavado y desinfección		
Destino del agua de lavado del cargador	2	Agua de lavado de cargador no entra en la RAZ		
	-2	Agua de lavado do cargador entra en la RAZ		

1.9 Transporte de animales - Total	0
------------------------------------	---

1.10 Eliminación de carcasas y residuos biológicos	Score	Criterios	Puntuación	Observaciones
Origen de carcasas	2	Única origen		
	-2	Múltiples orígenes dividen lo mismo local de eliminación de carcasas y residuos biológicos		
Proceso de eliminación	2	Foso, compostaje o incineración.		
	0	Contenedor exclusivo para carcasa y stock de residuos		
	-2	Colecta por vehículo fuera de CAZ		
Localizada	2	Localizado fuera de CAZ y >100m		
	0	Ubicado dentro de CAZ		
	-2	Utiliza el servicio de recogida		
Proceso de extracción de la carcasa	2	El empleado NO sale de RAZ		
	0	El empleado sale de RAZ pero cambia de ropa y calzados		
	-2	El empleado sale de RAZ sin cambios de ropas y calzados		

Control de roedores en el sitio de la carcasa	2	Actividad mínima de roedores y protocolos de control activo		
	-2	Actividad de roedores y fallo en los protocolos de control		
Almacenamiento de las carcasas	2	Almacenamiento en frío de cadáveres en la granja. Los empleados siguen los protocolos de almacenamiento / bioseguridad de la canal		
	0	Almacenamiento en frío de canales fuera de CAZ. Los empleados siguen los protocolos de almacenamiento / bioseguridad de la canal		
	-2	No hay almacenamiento en frío de los cadáveres.		
Equipo de recogida de cadáveres	2	Equipo de recogida de cadáveres exclusivo		
	0	Equipo de recolección de cadáveres utilizado para otras especies, pero exclusivo de la propiedad, sin posibilidad de contaminación cruzada.		
	-2	Equipos no exclusivos con posibilidad de contaminación cruzada.		
Vehículo de recogida de cadáveres	2	Acceso al sitio por camino exclusivo. Vehículo propio y exclusivo para el transporte de canales, siguiendo los protocolos TN de limpieza, desinfección y vacío sanitarios		
	0	Acceso al sitio por camino exclusivo. Vehículo propio y exclusivo para el transporte de las carcasas, pero NO sigue los protocolos TN de limpieza, desinfección y vacío sanitario.		
	-2	Vehículos subcontratados y camino no exclusivo para local de eliminación de cadáveres		
Eliminación general de residuos	2	Equipo dedicado para el transporte de residuos al sitio de tratamiento aprobado.		
	0	Equipo dedicado de granja para el transporte al punto de coleta fuera de CAZ		
	-2	Equipo no dedicado de granja para transporte de los residuos o coleta subcontratado dentro de CAZ		

1.10 Eliminación de carcasas y residuos biológicos - Total

0

1.11 Control de plagas, roedores, animales salvajes y mascotas	Score	Criterios	Puntuación	Observaciones
Control de roedores	2	Control realizado por personal de la granja o empresa externa, con protocolo TN aprobado y con registros		
	0	Control realizado por personal de la granja o empresa externa, sin protocolo o registros		
	-2	Control no realizado en la rutina		
Perímetro CAZ	2	Perímetro CAZ impide entrada de personas y animales silvestres		
	0	Perímetro CAZ es bien definido pero NO impide entrada de personas y animales silvestres		
	-2	Perímetro CAZ no está bien definido		
Almacenamiento de material	2	Ningún material no utilizado almacenado fuera de RAZ, las instalaciones están ordenadas y limpias		
	0	Ningún material no utilizado almacenado fuera de RAZ, las instalaciones están ordenadas y limpias		
	-2	Almacenamiento de material dentro de CAZ		
Presencia de roedores	2	No hay evidencias de actividades de roedores		
	-2	Hay evidencias de actividades de roedores		
	2	El área no contiene escombros, excavaciones, hierba alta y grava. Hay puntos de cebo		
Perímetro RAZ	0	El área no contiene escombros, excavaciones, hierba alta y grava. SIN puntos de cebo		
	-2	El área contiene escombros, excavaciones, hierba alta o grava. SIN puntos de cebo		
Aberturas y ventanas	2	Todas las aberturas están cubiertas con malla / malla para evitar que entren pájaros y moscas.		
	0	Todas las aberturas están cubiertas con malla / malla para evitar que las aves entren, pero NO evite que entren las moscas.		
	-2	Sin mallas y estado de conservación malo		
Control de plagas	2	Los insecticidas y larvicidas se usan para el control de plagas, las instalaciones están limpias y hay registros		

	0	Los insecticidas y larvicidas se usan para el control de plagas, pero las instalaciones NO están limpias.		
	-2	No ha programa de control de plagas		
Mascotas	2	No son permitidos mascotas en RAZ y CAZ		
	0	No son permitidos mascotas en RAZ, pero si permite en CAZ pero no entra en contacto con los cerdos		
	-2	Si permite dentro de RAZ y pueden entrar en contacto con los cerdos		

1.11 Control de plagas, roedores, animales de vida silvestre y mascotas - Total	
---	--

2. BIOSEGURIDAD INTERNA

2.0 Manejo General	Score	Criterios	Puntuación	Observaciones
Revisión de protocolos	2	Evaluado regularmente, auditado anualmente		
	0	No evaluado regularmente, auditado anualmente		
	-2	No evaluado y sin auditar		
Programa antihelmíntico	2	Animales tratados regularmente y monitoreados o la granja está libre de endoparásitos		
	0	Los animales son tratados antes de abordar y la granja no está libre de endoparásitos.		
	-2	Animales no son tratados y la granja no es libre de endoparásitos		
Programa de vacunal	2	Revisado una vez al año, ajustado cuando necesario y ha registro de fecha y alteraciones realizados por veterinario		
	-2	No es revisado anualmente y no hay registros		
Monitorización de signos clínicos	2	Personal específico realiza monitorización de signos clínicos de enfermedades diariamente y comunica inmediatamente al veterinario responsable y TN. Monitorización más frecuente cuando ha presencia de signos clínicos de enfermedades.		
	0	NO hay personal específico para Monitorización de signos clínicos de enfermedades diariamente y comunicación inmediata al veterinario responsable y TN.		
	-2	No hay monitorización de rutina para signos clínicos		
Almacenamiento de medicamentos y vacunas.	2	Todos los medicamentos y vacunas se identifican y almacenan en un lugar específico con la temperatura adecuada.		
	0	Los medicamentos y las vacunas NO se identifican y almacenan en un lugar y temperatura específicos.		
	-2	Medicamentos y vacunas no identificados y almacenados a la temperatura adecuada.		

2.0 Manejo General - Total	0
----------------------------	---

2.1 Gestación	Score	Criterios	Puntuación	Observaciones
Evaluación clínica de salud	2	Evaluación clínica diaria del estado de salud general y otros problemas.		

	0	Evaluación clínica ocasional del estado de salud general y otros problemas.		
Cuidados de la aguja (Hembras / sementales - medicación)	2	1 aguja por tuerca / sistema de aplicación individual o sin aguja		
	0	1 aguja para múltiples cerdas		
	-2	La misma aguja es utilizada para animales saludables y enfermos		
Cuidados con agujas (cerdas/machos - vacunación)	2	1 aguja por cerda/macho o sistema de aplicación sin agujas		
	0	1 aguja para 1-15 cerdas/machos		
	-2	1 aguja para >15 cerdas/machos		
Movimiento de personas y desinfección de botas	2	Todas las botas son lavadas y/o desinfectadas al entrar en pasillos /salas de gestación cuando provenientes de otras áreas de la granja		
	0	Ocasionalmente las botas son lavadas y/o desinfectadas al entrar en pasillos/salas de gestación cuando provenientes de otras áreas de la granja		
	-2	No ha protocolos específicos para desinfección de botas entre las áreas de la granja		
Eutanasia	2	Las cerdas /machos son eutanasiados de acuerdo con las normas aprobadas TN		
	-2	Las cerdas /machos eutanasiados NO siguen las normas aprobadas TN		
Medicación de cerdas /machos	2	las cerdas /machos son medicados de acuerdo con las normas aprobadas TN		
	-2	Las cerdas /machos medicados NO cumple las normas aprobadas de protocolo TN		
Conveniencias para limpieza y desinfección de instalaciones.	2	Las instalaciones de gestación son fáciles de limpiar, no ha grietas y superficies rugosas		
	0	Las instalaciones de gestación son fáciles de limpiar, hay pocas grietas y superficies rugosas.		
	-2	Las instalaciones de gestación NO son fáciles de limpiar, hay muchas grietas y superficies rugosas.		
Procedimientos de limpieza y desinfección de instalaciones.	2	Toda gestación se lava con detergente y agua caliente y se desinfecta al menos dos veces al año.		
	0	Toda gestación se lava con detergente y agua caliente y se desinfecta al menos una vez al año.		
	-2	Toda gestación NO se lava con agua caliente ni se desinfecta una vez al año.		

Densidad animal / Flujo de producción	2	Capacidad de instalaciones / flujo de animales es adecuado para los volúmenes de producción de la granja, proporcionando espacio adicional para el movimiento de la cerda durante el destete (el flujo no es demasiado apretado)		
	-2	Capacidad de instalaciones / flujo de animales NO es adecuado para los volúmenes de producción de la granja, ya que proporciona espacio adicional para el movimiento de la cerda durante el destete (el flujo es demasiado apretado)		
Control de ambiente	2	La temperatura en la gestación está bien ajustada para la edad y la comodidad de los animales, hay un control diario de temperatura		
	-2	La temperatura en la gestación NO es bien ajustada para la edad y conforto de los animales		

2.1 Gestación - Total	0
-----------------------	---

2.2 Maternidad	Score	Criterios	Puntuación	Observaciones
Inducción de partos	2	Solamente en casos de emergencias		
	0	Con frecuencia		
Limpieza de jaulas	2	Diaria		
	0	Solamente en día de parto		
	-2	No hay rutina de limpieza		
Intervención al parto	2	Solamente cuando necesario y con mucha higiene		
	0	Con mucha frecuencia y con buena higiene		
	-2	Con mucha frecuencia sin buena higiene		
Donación cruzada de lechones	2	Mínimo posible solamente con lechones de mismo grupo de edad, solamente después de 24 horas y antes de 4 días de vida, los lechones son identificados y registrados		
	-2	Con frecuencia en la rutina y/o entre lechones de diferentes grupos de edad		
Procedimientos con lechones (corte de cola, dientes, aplicación de hierro)	2	Procedimientos NO son ejecutados antes de 24 horas de vida, solamente los lechones destinados a reproducción son pesados		

		antes de las primeras 12 horas de vida.		
	0	Ejecutados hasta 24 horas depuso de nacimiento		
Equipos de procedimientos usados para lechones	2	Equipos están ordenados y con buena higiene		
	0	Equipos NO están ordenados o con buena higiene		
Diferencias de edad entre lechones de la misma sala	2	Diferencia de edad NO es superior a 7 días		
	0	Diferencia de edad NO es superior a 10 días		
	-2	Arriba de 10 días		
Orden de tratamiento entre lechones	2	Lechones saludables son tratados primero, lechones con signos clínicos de enfermedades o con bajo desarrollo son tratados por último.		
	0	Signos clínicos no son considerados para a orden de tratamiento, los lechones son tratados por orden más práctica		
Castraciones	2	Procedimientos de castraciones cumple con las reglas de bien estar y aprobadas por protocolo TN. Con muy buena higiene		
	0	Procedimientos de castraciones NO cumple las reglas aprobadas, pero hay buena higiene		
	-2	Procedimientos de castraciones NO cumple las reglas aprobadas y NO tiene buena higiene		
Higiene de las manos	2	Las manos son desinfectadas para tratamiento a cada camada o son usadas guantes descartables con cambios a cada camada.		
	0	Las manos son desinfectadas para tratamiento a cada cambio de sala o son usadas guantes descartables con cambios a cada sala		
	-2	Las manos NO son desinfectadas o NO hay cambios de guantes		
Carritos de transporte de lechones y báscula (para protocolo de pesaje de lechones)	2	Limpio y desinfectado después de cada camada o se usa una nueva protección desechable		
	0	Limpio y desinfectado después de cada sala o usa nueva protección desechable.		
	-2	El carrito y / o la báscula NO se desinfectan y se usan en varias salas.		

Cuidados con agujas (lechones - medicación)	2	1 aguja por lechón o sistema de aplicación sin agujas		
	0	1 aguja para lechón enfermo en misma sala		
	-2	la misma aguja es utilizada para lechones saludables y enfermos		
Cuidados con agujas (lechones - vacunación)	2	1 aguja por lechón o sistema de aplicación sin aguja		
	0	la aguja se cambia a cada sala y a cada 2 camadas		
	-2	la aguja se cambia a cada sala y > 2 camadas		
Cuidados con agujas (cerdas - medicación)	2	1 aguja por cerda o sistema de aplicación sin agujas		
	0	1 aguja para múltiples cerdas		
	-2	La misma aguja es utilizada para cerdas saludables y enfermos		
Cuidados con agujas (cerdas - vacunación)	2	1 aguja por cerda o sistema de aplicación sin agujas		
	0	1 aguja para hasta 15 cerdas		
	-2	1 aguja para >15 cerdas		
Movimiento de personas y desinfección de botas	2	Todas botas son lavadas y/o desinfectadas al ingresar en las salas de maternidad cuando provienen de otras áreas de la granja		
	0	Ocasionalmente , las botas se lavan y / o desinfectan al ingresar a las salas de otras cuando provienen de otras áreas de la granja.		
	-2	No existen protocolos específicos para limpieza y desinfección de botas entre las salas y las distintas áreas de la granja		
Tratamientos y eutanasia	2	Los animales son medicados o eutanasiados de acuerdo con normas aprobadas		
	-2	los animales son medicados o eutanasiados NO siguen las normas aprobadas		
Transferencia de animales enfermos	2	Animales enfermos no son transferidos de local		
	0	Animales enfermos son transferidos de local		
Prácticas para limpieza y desinfección de las instalaciones	2	Instalaciones de maternidad son fáciles de limpiar, no ha grietas y superficies rugosas		
	0	Las instalaciones de maternidad son fáciles de limpiar, pocas grietas y superficies rugosas		
	-2	Las instalaciones de maternidad NO son fáciles de limpiar, hay muchas grietas y superficies rugosas.		

Procedimientos de limpieza y desinfección de instalaciones	2	Las salas de maternidad se lavan con detergente y agua caliente, se desinfectan y se secan antes de la entrada de las cerdas antes de parto.		
	0	Las salas de maternidad se lavan con detergente y agua caliente y se desinfectan, pero NO se secan antes de que entren las cerdas antes de parto.		
	-2	NO hay una rutina para lavado y desinfección de salas de maternidad antes de la entrada de cerdas antes de parto		
Densidad animal / Flujo de producción	2	Capacidad de instalaciones/flujo de animales es adecuado para los volúmenes de producción de la granja y la maternidad es todo dentro/todos fuera (TD/TF) .		
	-2	capacidad de instalaciones /flujo de animales está adecuado para los volúmenes de producción de la granja pero la maternidad NO es todos dentro/ todos fuera		
Evaluación clínica de la salud	2	Evaluación clínica diaria de la condición de salud general e bien estar de cerdas y lechones.		
	0	Evaluación clínica ocasional de la condición de salud general y bien estar de cerdas y lechones		
Control de ambiente	2	La temperatura de la sala es buena y ajustada para la edad y confort de los animales, ha control periódico de temperatura		
	0	La temperatura de la sala está bien ajustada para la edad y la comodidad de los animales, pero NO hay controles periódicos de temperatura		
	-2	La temperatura se ajusta a la entrada de los animales y no se ajusta más tarde, sin controles regulares.		

2.2 Maternidad - Total

0

2.3 Destete	Score	Criterios	Puntuación	Observaciones
Mantenimiento de lotes de lechones al destete	2	Sin mezcla - las camadas son mantenidas iguales durante la fase de destete		

	0	Cuando hay mezclas, solamente lechones de dos camadas son mezclados		
	-2	Más de 2 camadas se mezclan al destete		
Separación de corrales	2	Cerrados, sin contacto entre corrales		
	0	No cerrado. Permite el contacto entre los lotes		
Cuidados con agujas (lechones - medicación)	2	Una aguja por lechón o sistema sin agujas		
	0	Una aguja por lechón enfermo en el mismo lote		
	-2	La misma aguja es usada para lechones saludables y enfermos.		
Cuidados con agujas (lechones - vacunación)	2	Una aguja por corral o < 15 lechones, o sistema de aplicación sin aguja		
	0	La aguja se cambia a cada corral o > 15 lechones		
	-2	La misma aguja se usa en múltiples lotes.		
Movimiento de personas y desinfección de botas	2	Todas las botas son lavadas y/o desinfectadas al entrar en los pasillos /salas de destete cuando provenientes de otras áreas de la granja		
	0	Ocasionalmente las botas son lavadas y/o desinfectadas al entrar en los pasillos/salas de destete cuando provenientes de otras áreas de la granja		
	-2	No hay protocolos específicos para desinfección de botas entre las áreas de la granja		
Tratamientos y Eutanasia	2	Los lechones son medicados o eutanasiados de acuerdo con las normas aprobadas		
	-2	Los lechones medicados o eutanasiados NO siguen las normas aprobadas		
Transferencias de animales enfermos	2	Los lechones enfermos son tratados de forma proactiva en propio corral de origen y son transferidos para uno otro corral específico cuando es necesario.		
	0	los lechones enfermos son transferidos para un corral específico de tratamiento y no son tratados en corral origen		
Practica de limpieza y desinfección de las instalaciones	2	las salas de destete son fáciles de limpiar, no hay grietas y superficies rugosas		
	0	las salas de destete son fáciles de limpiar, hay pocas grietas y superficies rugosas		
	-2	Las salas de destete NO son fáciles de limpiar, hay muchas grietas y superficies rugosas.		

Procedimientos de limpieza y desinfección de las instalaciones	2	Todas las salas de destete son lavadas con uso de detergente y agua caliente, desinfectadas y secas antes de la entrada de lechones		
	0	Todas las salas de destete son lavadas con uso de detergente y agua caliente y desinfectadas, pero NO son secas antes de la entrada de lechones.		
	-2	NO hay una rutina para lavado y desinfección de las salas de destete antes de la entrada de lechones.		
Densidad animal / Flujo de producción	2	Ocupación/flujo de animales están adecuados para los volúmenes de producción de la granja y el destete funciona con TD/TF		
	-2	Ocupación/flujo de animales son adecuados para los volúmenes de producción de la granja y el destete no funciona con TD/TF		
Capacidad de ocupación	2	Hay espacio extra en caso de necesidad para mantener los animales más tiempo de que el habitual		
	0	No hay espacio extra, y caso de necesidad hay súper ocupación inmediata		
Evaluación clínica de la salud.	2	Evaluación clínica diaria del estado general de salud y bienestar de los lechones.		
	0	Evaluación clínica ocasional del estado general de salud y bienestar de los lechones.		
Control de ambiente	2	La temperatura de la sala es bien ajustada para a edad y confort de los animales, hay conferencias periódica de temperatura		
	0	La temperatura de la sala es bien ajustada para a edad y confort de los animales, No hay conferencias periódica de temperatura		
	-2	La temperatura es ajustada en la entrada de los animales y no más ajustada posteriormente, sin verificaciones regulares		

2.3 Destete - Total

0

2.4 Crecimiento / Finalización	Score	Criterios	Puntuación	Observaciones
Mantenimiento de lotes de lechones después de salida de destete	2	Sin mezclas los animales son de mismo corral son alojados iguales después la salida de destete		

	0	Cuando hay mezclas, solamente 1 lechones de cuatro corrales son mezclados		
	-2	Más de 4 corrales so mezclado en la salida de destete		
Cuidados con agujas (animales de crecimiento - medicación)	2	Una aguja por animal o sistema de aplicación sin agujas		
	0	Una aguja por animal enfermo en lo mismo corral		
	-2	La misma aguja es usada para animales saludables y enfermos		
Cuidados con agujas (animales - vacunación)	2	Una aguja por corral o < 15 animales, o sistema sin agujas		
	0	la aguja se cambia a cada corral o > 15 animales		
	-2	La misma aguja es usada e múltiples lotes		
División de corrales	2	Cerrados, sin contacto entre lotes		
	0	No cerrado, permite contacto entre animales de diferentes lotes		
Área de selección	2	Equipos y área de selección son limpios, lavados y desinfectados diariamente o siempre después de cada uso		
	0	Equipamientos e área de selecto son lavados e desinfectados semanalmente		
	-2	NO hay una rutina para lavado e desinfeccão dos equipamentos e área de seleção		
Movimiento de personas y desinfección de botas	2	Todas botas son lavadas y/o desinfectadas al entrar en pasillo /salas de recría cuando provenientes de otras áreas de la granja		
	0	Ocasionalmente las botas son lavadas y/o desinfectadas al entrar en pasillos/salas de recría cuando viene de otras áreas da granja		
	-2	No ha protocolos específicos para desinfección de botas entre las áreas de la granja		
Tratamientos y eutanasia	2	Los animales son medicados o eutanasiados de acuerdo con las normas aprobadas		
	-2	Los animales medicados o eutanasiados NO siguen las normas aprobadas		
Transferencias de animales enfermos	2	Los animales enfermos son tratados de forma proactiva en corral de origen y son transferidos para otro corral específico si necesario		
	0	Los animales enfermos son transferidos para uno corral específico para tratamiento y no son tratados en corral de		

		origen		
Prácticas de limpieza y desinfección de las instalaciones	2	Las salas de crecimiento son fáciles de limpiar, no hay grietas y superficies rugosas		
	0	La salas de C/F son fáciles de limpiar, hay pocas grietas y superficies rugosas		
	-2	Las salas de crecimiento NO son fáciles de limpiar, hay muchas grietas y superficies rugosas		
Procedimientos de limpieza y desinfección de las instalaciones	2	Todos los corrales son lavados con uso de detergente e agua caliente, desinfectadas e secas antes da entrada dos lechones		
	0	Todos los corrales son lavados con uso de detergente y agua caliente y desinfectados, pero NO son secados antes de la entrada de lechones		
	-2	NO hay una rutina para lavado y desinfección de los corrales antes de la entrada de lechones		
Densidad animal / Flujo de producción	2	La ocupación/flujo de animales están adecuado para los volúmenes de producción de la granja y lo crecimiento es TD/TF		
	-2	La ocupación/flujo de animales está adecuado para los volúmenes de producción de la granja aunque el crecimiento NO es TD/TF		
Capacidad de ocupación	2	Ha espacio extra en caso de necesidad para mantener los animales más tiempo de lo habitual		
	0	No hay espacios extras, en caso de necesidad hay sobrepoblación inmediata		
Evaluación Clínica de Salud	2	Evaluación clínica diaria del estado general de salud y bienestar de los animales.		
	0	Evaluación clínica ocasional del estado general de salud y bienestar de los lechones.		
Control de ambiente	2	la temperatura de la nave es bien ajustada para la edad y conforto de los animales, hay control periódico de temperatura		
	0	la temperatura de la nave es bien ajustada para la edad y conforto de los animales, pero NO hay control periódico de temperatura		
	-2	la temperatura es ajustada en la entrada de los animales y no más ajustada posteriormente, sin control regulares		

2.4 Crecimiento / Finalización - Total	0
--	---

3. RESULTADOS

Puntuación de Auditoria de Bioseguridad

Granja:

Bioseguridad Externa

Categoría		Puntuación Auditoria	Máxima Puntuación
1.1	Área externa	0	26
1.2	Introducción de nuevos animales / cuarentena	8	48
1.3	Visitantes	12	26
1.4	Alimentación de los animales	4	12
1.5	Abastecimiento de agua	0	4
1.6	Tratamiento y distribución de purines	4	8
1.7	Introducción de semen	6	10
1.8	Introducción de materiales y medicamentos	-2	10
1.9	Transporte de animales	0	14
1.10	Eliminación de carcasas e residuos biológicos	4	18
1.11	Control de plagas, roedores, animales salvajes y mascotas	2	16
Total		38	192

Bioseguridad Interna

Categoría		Puntuación Auditoria	Máxima Puntuación
2.0	Manejo General	2	10
2.1	Gestación	-2	20
2.2	Maternidad	8	46
2.3	Destete	6	28
2.4	Crecimiento/Finalización	6	28

	Total	20	132
--	--------------	----	-----

Puntuación de Bioseguridad General

	Puntuación Auditoria	Máxima Puntuación
Bioseguridad Externa (3 veces a puntuación)	114	576
Bioseguridad Interna (1 vez a puntuación)	20	132
Total	134	708

El peso para Bioseguridad Externa es 3 veces a puntuación

El peso para Bioseguridad Interna es 1 vez a puntuación

Semáforo de bioseguridad

