

**UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA
ESCUELA DE MEDICINA VETERINARIA**

**DIAGNOSTICO SEROLOGICO DE PLEURONEUMONIA CONTAGIOSA
PORCINA (PCP) CAUSADA POR Actinobacillus pleuropneumoniae, EN DOS
GRANJAS TECNIFICADAS EN GUATEMALA.**



Tesis

**Presentada a la Junta Directiva de la Facultad de Medicina Veterinaria y
Zootecnia de la Universidad de San Carlos de Guatemala**

Por

Ewald Rubén García Montero

Como requisito previo a conferírsele el Título de

Médico Veterinario.

Guatemala, septiembre de 1998.

HONORABLE TRIBUNAL EXAMINADOR

Cumpliendo con los preceptos que establece la ley de la Universidad de San Carlos de Guatemala, presento a su consideración el trabajo de Tesis titulado:

**DIAGNOSTICO SEROLOGICO DE PLEURONEUMONIA
CONTAGIOSA PORCINA (PCP) CAUSADA POR
Actinobacillus pleuropneumoniae, EN DOS GRANJAS
TECNIFICADAS EN GUATEMALA.**

El cual me fuera aprobado por la Junta Directiva de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, previo a optar el título de

Médico Veterinario.

JUNTA DIRECTIVA
Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia
Universidad de San Carlos De Guatemala

DECANO: Lic. Rodolfo Chang Shum
SECRETARIO: Dr. Miguel Angel Azañón
Vocal I: Lic. Rómulo Gramajo Lima
Vocal II: Dr. Otto Lima Lucero
Vocal III: Lic. Eduardo Splegler
Vocal IV: Br. José E. Moreno Villagrán
Vocal V: Br. Eduardo Rodas Nuñez

ASESORES

Dr. Carlos E. del Aguila Bernasconi
Dr. Jaime R. Méndez Sosa
Dr. Edy O. Batres Rivera

TESIS QUE DEDICO

- A DIOS** Ser Supremo, Luz de mi camino
- A MIS PADRES** Manuel Rubén García Batres
Carmen Montero de García
Como premio a su esfuerzo y dedicación
- A MIS ABUELOS** Miguel Angel Montero
Blanca Maradiaga
Manuel García
Beatriz Batres
- A MI ESPOSA** Ana Cecilia Artiles de García
- A MIS HIJAS** Mariandrée y Camila
- A MIS HERMANOS** Max y Sandra.
- A MIS TIOS** Gabriel, Gustavo, Oscar, Cristobal,
Reyna, Azucena, Alba, Gloria y
especialmente a María García de
Schaeffer como homenaje póstumo a
su incondicional apoyo.
- A MIS PRIMOS** A todos, les comparto éste trabajo, y
especialmente a Estuardo y Sandra
en su memoria.
- A USTED** Especialmente

AGRADECIMIENTO

A

Universidad de San Carlos de Guatemala

Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia

**Mis Asesores Dr. Carlos del Aguila
 Dr. Jaime Méndez
 Dr. Edy Batres**

Personal de el Laboratorio de Microbiología

Todos los Catedráticos, quienes compartieron sus conocimientos

Las Empresas Porcinas donde se realizó éste trabajo

**Al Dr. Luis Moreira , Lic. Mauricio Palacios
Ing. Alejandro Mazarlegos**

A todos mis compañeros, con quienes compartimos éxitos.

INDICE

I. INTRODUCCION	1
II. OBJETIVOS	2
III. HIPOTESIS	3
IV. REVISION BIBLIOGRAFICA	4
4.1 Definicion	4
4.2 Agente Etiológico	4
4.3 Aspectos de virulencia y daño pulmonar	6
4.4 Distribución Geográfica	8
4.5 Epidemiología de la PCP	8
4.6 Diagnóstico de la Enfermedad	9
4.6.1 Métodos de Diagnóstico de la PCP	10
V. MATERIALES Y METODOS	11
5.1 Descripción Geografía	11
5.2 Materiales	12
5.3 Método	13
VI. ANALISIS DE DATOS	15
VII. RESULTADOS Y DISCUSION	17
VIII. CONCLUSIONES	18
IX. RECOMENDACIONES	19
X. RESUMEN	20
XI. BIBLIOGRAFIA	22
XII. ANEXOS	25

I. INTRODUCCION:

La producción porcina a nivel mundial ha tenido un importante auge en los últimos cinco años, debido al mejoramiento de la calidad nutricional que aporta a la dieta de los humanos.

En Guatemala, se han iniciado esfuerzos para incentivar a la población a aumentar su consumo, con los consiguientes beneficios que el consumir carne de cerdo les aporta.

Por tal razón, la porcicultura en nuestro país, ha tomado niveles de tecnificación y de eficiencia en la producción, por lo que se necesita de métodos de apoyo para lograr tener una pía sana, que se enfoque a la transformación de la proteína vegetal a proteína animal, en conversiones que genéticamente estén diseñadas las razas y/o híbridos, y que sean económicamente rentables.

Por tal razón nos ha interesado el poder colaborar con la sanidad de las pías, en nuestro país, realizando pruebas en una de las empresas de mayor tamaño en el país, para determinar la presencia de anticuerpos contra el Actinobacillus pleuropneumoniae, el cual es un ente patológico causante de la Pleuroneumonía Contagiosa Porcina (PCP), mediante un método de aglutinación directa en placa.

Los resultados que ésta prueba nos aporte, dará la pauta de la presencia o no del patógeno, en la pía, y nos ayudará a enfocar los tratamientos para el control de la enfermedad, la cual no se ha diagnosticado hasta la fecha en Guatemala, serológicamente, solo se sospecha por los hallazgos clínicos postmortem en los pulmones de los animales necropsiados y en las observaciones a nivel de rastro.

De ésta manera, apoyaremos el diagnóstico de una de las enfermedades que en el ganado porcino, a nivel mundial, ha causado grandes pérdidas económicas, al afectar la salud de los cerdos en granja.

II. OBJETIVOS:

GENERAL:

Contribuir al conocimiento de la patología porcina en Guatemala.

ESPECIFICO:

Determinar la presencia anticuerpos circulantes de Actinobacillus pleuropneumoniae en cerdos de engorde en dos granjas tecnificadas en Guatemala.

III. HIPOTESIS:

Existen anticuerpos circulantes contra Pleuroneumonía Contagiosa Porcina (PCP) en el 50% de los cerdos de engorde estudiados en las dos granjas en Guatemala.

IV. REVISION BIBLIOGRAFICA

4.1. Definición:

La pleuroneumonía contagiosa porcina es una enfermedad específica de los cerdos, producida por el Actinobacillus pleuropneumoniae (cepas capsuladas de esta bacteria). La enfermedad afecta a cerdos de todas las edades, pero son los animales en crecimiento y engorde, entre los 2 y 6 meses de edad los habitualmente afectados.

Históricamente, la primera descripción de la enfermedad se hizo de modo casi simultáneo por Olander en 1963 en California y por Shope en 1964 en Argentina. En principio, el agente etiológico fue descrito como Haemophilus parahaemolyticus.(1)

Dependiendo de la virulencia del agente, de la dosis infectiva, del estatus inmune del animal infectado y del estrés causado por las condiciones ambientales adversas, la enfermedad se puede presentar en forma sobreaguda, aguda, subaguda o crónica. La enfermedad aguda se caracteriza por extensas hemorragias y exudación fibrinosa en el parénquima pulmonar y en la cavidad pleural; habitualmente se define como pleuritis fibrinosa y neumonía necrotizante hemorrágica, que conduce a la muerte en 24-48 horas. Con frecuencia, los animales que sobreviven a un proceso agudo, desarrollan lesiones crónicas, con necrosis pulmonar, infartos, abscesos, escaras y adherencias fibrinosas en la cavidad pleural, transformándose en portadores. La introducción de un portador crónico o subclínico en una explotación no inmunizada o sometida a una situación de stress, puede dar lugar a un brote agudo de la enfermedad. La serodetección de estos portadores clínicamente sanos es crucial, puesto que son fuentes de infección capaces de infectar a los animales sanos no inmunizados.

Las lesiones observadas en los animales que sufren la forma sobreaguda indican la existencia de una intensa respuesta inflamatoria, evidenciable por la presencia de hemorragias, edema, y una exudación fibrinosa resultante de una permeabilidad vascular incrementada, así como de una infiltración de neutrófilos del parénquima pulmonar.(1,2)

4.2. Agente Etiológico.

La bacteria Actinobacillus pleuropneumoniae es el agente responsable de la Pleuroneumonía Contagiosa Porcina, PCP, y está ampliamente distribuida en varios países. El agente etiológico es considerado hoy en día como Actinobacillus pleuropneumoniae, debido a los estudios realizados sobre las bases fenotípicas y sobre el ácido desoxirribonucleico (ADN) de estas bacterias, hicieron que se transfiriera de la especie Haemophilus pleuropneumoniae a la especie Actinobacillus pleuropneumoniae biovariedad 1 si es dependiente de nicotinamida adenin dinucleótido (NAD) y la especie Pasteurella hemolytica a la especie Actinobacillus pleuropneumoniae biovariedad 2 si no es dependiente de NAD.

Actinobacillus pleuropneumoniae es una bacteria aerobia o anserobia, una característica fundamental de este microorganismo es la depender de NAD, factor de crecimiento conocido como V, el cual tiene la siguiente fórmula: C21, H27, N7, O14, P2; no requieren de hemina, conocido como factor de crecimiento X presente en los medios enriquecidos con sangre.

La bacteria es Gram negativa y pleomórfica, generalmente se observa como un bacilo corto y encapsulado que mide de 0.5 a 1.5cm. de largo por 0.3 cm. de ancho. Es una bacteria que carece de flagelos y no produce esporas, sin embargo, posee fimbrias citoadherentes.

Para los aislamientos primarios es importante que el NAD se lo proporcione in situ otro microorganismo, mediante una estría sobre el cultivo sospechoso de Actinobacillus pleuropneumoniae, dicho fenómeno se conoce como satelitismo. Entre los microorganismos que sirven como cepas nodrizas se encuentran: Staphylococcus aureus; Staphylococcus albus; Streptococcus faecalis; especies de género Bacillus y especies de género Pseudomona. El empleo de Staphylococcus aureus nos permite observar además de la dependencia, el fenómeno de Christie; Atkins y Munch-Petersen (CAMP), en donde la beta hemólisis de la toxina-B del estafilococo actúa en forma sinérgica con la cohemolisina de Actinobacillus pleuropneumoniae sobre placas de agar sangre. (2)

Las colonias en agar infusión cerebro corazón (BHI) con la cepa nodriza, suelen ser muy pequeñas (menores a un milímetro), blanquecinas, brillantes y mucoides; las colonias en BHI agar suplementado con extracto fresco de levadura o NAD se observan de mayor tamaño; se reconocen dos variantes coloniales, una lisa y otra rugosa y a veces adherentes al medio sólido (3,8).

4.3. Aspectos de virulencia y daño pulmonar.

Los factores de virulencia identificados hasta ahora incluyen estructuras celulares como la cápsula (polisacáridos capsulares), lipopolisacáridos (endotoxinas), hemolisinas, otras exotoxinas, factores de permeabilidad y otras proteínas de membrana externa, incluyendo proteínas reguladas por el hierro. A pesar del conocimiento de que ahora se dispone de la participación de estas sustancias y estructuras y de la extensa información respecto de las manifestaciones clínicas e histopatológicas, la patogénesis de la enfermedad aún se conoce de forma muy incompleta.

Cápsula.

La cápsula es la reponsable de la especificidad del serotipo, en el presente se reconocen diez serotipos designados con números arábigos del 1 al 10; se han designado otros dos serotipos el 11 y 12, pero aún el estatus del serotipo 11 no esta claro.

Dentro de las propiedades biológicas de la cápsula se mencionan las siguientes: son inertes, no tiene actividad tóxica (como la reacción de Schwartzman), tampoco tiene actividad pirógena. Sin embargo, se ha encontrado que mata al embrión de pollo, presenta actividad blastogénica linfocitaria, debido a la carga negativa que le confiere la cápsula hay resistencia a la fagocitosis por neutrófilos (PMN), es opsonizado por los anticuerpos e interfiere con la actividad del complemento hacia la membrana.(10)

Los anticuerpos generados contra la cápsula, solo protegen contra la muerte, pero no contra las lesiones pulmonares y a la infección crónica. La virulencia atribuida a la cápsula es variable entre los diferentes serotipos, y aunque es requerida para que un Actinobacillus pleuropneumoniae sea virulento, aún no se conoce por completo el papel patogénico de la cápsula.

Fimbrias Citoadherentes.

En México se han realizado una serie de investigaciones que mostraron que cuando se inocularon por nebulización con Actinobacillus pleuropneumoniae (en una cámara de aerosoles) a cerdos, conejos, ratones y cobayos, sólo los cerdos se infectaron y murieron con inóculo que

variaron de 2×10^4 hasta 2×10^8 unidades formadoras de colonias/ml (UFC/ml). Estas evidencias muestran la alta especificidad de especie de Actinobacillus pleuropneumoniae hacia el cerdo, sugiriendo probablemente, que el cerdo posee receptores específicos hacia el factor de adherencia de esta bacteria.

En otros estudios se han identificado Actinobacillus pleuropneumoniae estructuras semejantes a fimbrias o pilis citoadherentes, denominadas también adhesinas. Sin embargo, no se han encontrado estos apéndices extracelulares en Actinobacillus pleuropneumoniae cultivados in vitro que ya tienen bastantes pases en el laboratorio, y al parecer solo la bacteria expresa estos antígenos en el cerdo. Recientemente se han identificado estas estructuras mediante microscopía electrónica y estudios de patogenicidad en cerdos Libres de Gérmenes Patógenos Específicos, o SPF, en donde se demuestra que Actinobacillus pleuropneumoniae tiene y presenta factores de adherencia o pilis citoadherentes en el cerdo, mientras que solo se mantienen estos pilis en los primeros pases de la bacteria en medios de cultivo in vitro.(18)

Lipopolisacárido.

Las bacterias Gram negativas se caracterizan por presentar una membrana externa, que estructuralmente es idéntica a la membrana celular o interna, sólo que en la membrana externa o envoltura celular se encuentra enclavado el lipopolisacárido (LPS). En Actinobacillus pleuropneumoniae se encuentra un antígeno somático denominado "O" situación que no ocurre con las bacterias del género Haemophilus, por lo que el término de LPS no se aplica y si el de lipooligosacárido (LOS).

La estructura del antígeno "O" es variable entre los diferentes serotipos de Actinobacillus pleuropneumoniae y se componen de glucosa (principalmente); galactosa; ramnosa; azúcares aminados como la N-acetilglucosamina y la N-acetilgalactosamina.(10)

Las propiedades biológicas del LPS se resumen en las siguientes actividades: tienen la actividad biológica clásica de una endotoxina de los Gram negativos; el LPS de Actinobacillus pleuropneumoniae gelifica a los amebocitos del género Limulus; cuando se inocula por vía intradérmica se produce una reacción de Schwartzman; también el LPS actúa como un pirógeno. El LPS de los diferentes serotipos de Actinobacillus pleuropneumoniae, inducen una infiltración de células inflamatorias cuando se inocula a ratones y cerdos por vía respiratoria, observándose una neumonía intersticial multifocal y no la neumonía fibrinohemorrágica necrótica clásica de la PCP. (10)

Proteínas de Membrana Externa:

El perfil de las proteínas localizadas en la membrana externa, se ha estudiado en todos los serotipos de Actinobacillus pleuropneumoniae. Basándose en la movilidad de éstas proteínas, la migración ocurrió de la siguiente manera: en las regiones de 39 a 44 kd (kilodaltons); de 16 a 16.5 kd y en la región de 29 kd correspondiente a una proteína modificable por el calor, por lo que se han identificado 7 patrones en nueve serotipos probados.

Las proteínas de la membrana externa de los serotipos 1 y 9 fueron idénticas estos serotipos presentan reacción cruzada por sus antígenos capsulares, así como los serotipos 2 y 6 estos serotipos no cruzan por sus antígenos capsulares), los serotipos 3, 4, 5, 7, y 8 presentaron perfiles proteínicos diferentes (éstos serotipos solo cruzan por sus antígenos capsulares de la siguiente manera: el 3 con el 8, el 4 con el 7 y el 5 que no cruza con los demás).(10)

Exotoxinas:

En los sobrenadantes de los cultivos de Actinobacillus pleuropneumoniae se ha encontrado actividad tóxica sobre diferentes células, tales como linfocitos y macrófagos alveolares pero principalmente contra glóbulos rojos, esta actividad funcional ha determinado que a esos factores tóxicos se le denominen "hemolisinas" o "citolisinas". Se han identificado tres tipos distintos de actividad en las citotoxinas de Actinobacillus pleuropneumoniae: Citolisina I (Cly I); Citolisina II (Cly II). Se han encontrado cepas de Actinobacillus pleuropneumoniae que son citotóxicas pero no hemolíticas (16).

Se ha encontrado que la citolisina I la producen los serotipos 1, 5, 9, y 11; así mismo la Citolisina II la producen prácticamente todos los serotipos (1,2,3,4,5,6,7,8,9,11 y 12); mientras que la Citolisina III la producen solo los serotipos 2,3,4,6, y 8.

Estas hemolisinas no muestran diferencias antigénicas entre serotipos, aunque antigénicamente diferentes entre ellas. La actividad hemolítica de esta proteína es probablemente la responsable de las lesiones iniciales de la Pleuroneumonía Contagiosa Porcina, PCP, caracterizadas por ser hemorrágicas y necróticas (16). El mecanismo de acción de al menos una de las hemolisinas purificadas por Lalonde et al. (1989) tiene lugar por la formación de poros en los eritrocitos y en los fosfolípidos de membrana.

El análisis de secuencia del DNA del gen estructural hlyA de la hemolisina revela una gran similitud con la alfa hemolisina de E. coli y muestra que las hemolisinas de A. pleuropneumoniae son miembros de la familia RTX (Repeat in The Structural Toxin) de hemolisinas/citotoxinas, que incluyen además la alfa hemolisina de E. coli y la leucotoxina de Pasteurella haemolytica, entre otras muchas.

Se ha descrito una prueba de neutralización de la hemolisina, usando sobrenadante de Actinobacillus pleuropneumoniae como fuente de hemolisina (8). Esta prueba ha mostrado varias ventajas sobre las pruebas convencionales como serían: no son serotipo-específicas; permiten diferenciar entre animales vacunados y no vacunados y tiene buena sensibilidad. Sin embargo, tiene problemas de especificidad por que la HL1 muestra reacciones cruzadas con una variedad de bacterias en las que se incluyen Escherichia coli, Pasteurella haemolytica y Actinobacillus suis. El grupo de la Universidad de Minnesota ha modificado esta prueba y la hicieron mas simple y específica, la prueba determina anticuerpos neutralizantes de la hemolisina, la presencia de dichos anticuerpos se interpreta como una infección por cepas de campo, diferenciándolos de aquellos anticuerpos producidos por una vacunación. Aunque no se sabe la importancia práctica, esta prueba se puede realizar fácilmente en laboratorios con pocos recursos técnicos.(19)

Pleurotoxina:

También se ha encontrado durante la fase de crecimiento, en los sobrenadantes de cultivo de Actinobacillus pleuropneumoniae, efecto tóxico en células adherentes de lavados pulmonares (macrófagos), así como en monocitos circulatorios, pero su efecto es menor sobre células testiculares. Su producción se inhibe por el oxígeno y el colesterol, es termolábil, es hemolítica y tóxica para los neutrófilos (PMN), es sensible a las proteasas, es una proteína inmunogénica que es neutralizada por los sueros de cerdos convalescientes a Pleuroneumonía Contagiosa Porcina, PCP (15).

4.4 Distribución Geográfica.

La Pleuroneumonía Contagiosa Porcina (PCP), esta ampliamente distribuida en muchos países, en varios lugares se han aislado, identificado y tipificado los diferentes serotipos de Actinobacillus pleuropneumoniae. En algunos países como Dinamarca se han encontrado casi todos los serotipos (1,2,3,4,6,8,9,10,11, y 12), prevaleciendo el serotipo 2; en algunos otros países como: Argentina, Irlanda, Rumania, Taiwan y Venezuela han identificado solo un serotipo (1, 8, 5 y 7) respectivamente; mientras que en otros no se han identificado.

En otro estudio sobre el aislamiento y serotipificación de Actinobacillus pleuropneumoniae de pulmones de cerdos con pleuropneumonía en diferentes Estados de México, se estudiaron 114 pulmones de cerdos de los cuáles 74 se obtuvieron de animales con pleuropneumonía procedentes de granjas porcinas de 9 Estados de la República Mexicana: Se aislaron Actinobacillus pleuropneumoniae de 64 pulmones con lesiones de pleuroneumónicas, de los diferentes Estados de México. El principal serotipo aislado fue el 1, el cual se considera responsable de los brotes más severos de pleuroneumonía en el campo. Los serotipos de A. pleuropneumoniae aislados en los diferentes estados de la República muestran que en Jalisco se identificaron los serotipos 1,2,3,5, y 8; en Michoacán el 1,5,6,7 y el 8; en Guanajuato el 1,4, y el 5; en el estado de México el 1 y el 5; en Sonora y Querétaro el 1 y en Yucatán el 5.(4,5)

4.5. Epidemiología de la PCP

El cerdo es la única especie que en forma natural es susceptible a Actinobacillus pleuropneumoniae causándole una PCP sobreaguda, aguda o crónica. La morbilidad se puede presentar hasta en un 100%, con una mortalidad variable que va desde el 20 hasta el 80%. La mortalidad se presenta en cerdos de 4 semanas de edad, sin embargo, las pérdidas por muerte se encuentran limitadas en cerdos de 12 a 16 semanas de edad (6,7).

Actinobacillus pleuropneumoniae se transmite por contacto directo, por medio de aerosoles de un cerdo portador o enfermo a otro susceptible. Durante los brotes de PCP agudos en la granja, la enfermedad se disemina de un área a otra, que se irradia desde ellas con una severidad e incidencia disminuida, sugiriendo el papel del aerosol en la diseminación de la enfermedad. También los cerdos pueden infectarse en forma indirecta, por el mismo personal de la granja, por medio de la ropa, botas e instrumental contaminado. El papel de los roedores y de las aves silvestres en la diseminación de la PCP no ha sido demostrada, debido a que no se ha logrado aislar Actinobacillus pleuropneumoniae de estos animales, sin embargo, trabajos realizados recientemente han revelado que las aves tienen anticuerpos contra los serotipos 1, 2, y 9 de Actinobacillus pleuropneumoniae (2,7).

Actinobacillus pleuropneumoniae posee varios factores de virulencia, que interactúan entre ellos para producir en el cerdo la pleuroneumonía. Es probable que este ocurriendo los siguientes eventos:

- a) Actinobacillus pleuropneumoniae es altamente específico para el cerdo, probablemente porque en el epitelio de la mucosa respiratoria, posee receptores para los piliis citoadherentes, fimbrias que sólo se expresan en el cerdo. La bacteria al ser inhalada, se pega por medio de estas estructuras a la mucosa respiratoria y no es eliminada del pulmón por sus mecanismos de remoción.

- b) La virulencia atribuida a la cápsula es variable entre los diferentes serotipos, y aunque es requerida para que en un Actinobacillus pleuropneumoniae sea virulento, aún no se conoce por completo el papel patogénico de la cápsula. La cápsula de Actinobacillus pleuropneumoniae no tiene actividad tóxica (como la reacción de Schwartzman o actividad pirógena, pero si hay actividad blastogénica linfocitaria, así mismo hay resistencia a la fagocitosis por parte de los neutrófilos además de que interfiere con la actividad del complemento, hacia la membrana.
- c) El efecto del LPS de Actinobacillus pleuropneumoniae cuando se inócula por vía intradérmica se produce una reacción de Schwartzman; también el LPS de los diferentes serotipos de Actinobacillus pleuropneumoniae, induce una infiltración de células inflamatorias cuando se inocula a ratones y cerdos por vía respiratoria, observándose una neumonía intersticial multifocal y no la neumonía fibrinohemorrágica necrótica clásica de la PCP.
- d) Garantizada la permanencia de Actinobacillus pleuropneumoniae en el pulmón, la bacteria excreta sus exotoxinas. La actividad las citolisinas es la responsable de las lesiones iniciales de la PCP, caracterizadas por ser hemorrágicas y necróticas. También se ha encontrado en Actinobacillus pleuropneumoniae, efecto tóxico sobre células adherentes de lavados pulmonares (macrófagos), así como en monocitos circulantes, además posee actividad hemolítica y tóxica para los neutrófilos (PMN), y es neutralizada por los sueros de cerdos convalescientes a PCP.(19)

4.6. Diagnóstico de la Enfermedad.

El diagnóstico definitivo de la PCP debe ser oportuno y rápido y es esencial identificar los diferentes serotipos prevalentes en el país, para así elaborar los biológicos adecuados para el diagnóstico y la inmunización de los animales. En el diagnóstico de la PCP se emplean diversos métodos, sin embargo solo uno o dos de ellos confirman la enfermedad y el serotipo presente:

- Observación de los signos clínicos en el cerdo y en los de la zahurda. (7).
- Observación de las lesiones a la necropsia de los animales muertos de casos hiperagudos y agudos durante la inspección en los centros de abasto de los casos crónicos. (6).
- Aislamiento y tipificación de Actinobacillus pleuropneumoniae a partir de los pulmones de cerdos con problemas agudos o bien crónicos. (8,11).
- Diagnóstico serológico que se lleva a cabo en los cerdos vivos de las granjas. (8,10,11).

El método serológico es el más adecuado ya que se puede realizar en los animales vivos con ó sin signos clínicos no requiere del sacrificio de los cerdos, es más rápido y nos permite hacer perfiles de la enfermedad, identificando el punto de infección en la granja. Para el diagnóstico serológico de la PCP podemos mencionar las siguientes pruebas: aglutinación (20) aglutinación con partículas de látex, aglutinación en tubo con 2-mercaptoetanol (13), hemoaglutinación indirecta (12,13), fijación de complemento (9), prueba de inmunotransferencia o Western Blot y prueba de ELISA (14).

La prueba de fijación de complemento se utilizan en muchos países en forma rutinaria porque determina que granjas están libres de la enfermedad, sin embargo, es una prueba demasiado complicada que ocupa muchos controles, además de que el suero no debe estar hemolisado y por lo tanto el sangrado del cerdo debe ser adecuado. Por otro lado existe la probabilidad de obtener actividad anticomplementaria en el suero porcino la cuál interfiere en la interpretación de esta prueba.

En otros países, el diagnóstico de la PCP se lleva o se llevó a cabo mediante los cuatro métodos. Para establecer las medidas de control y erradicación utilizan el diagnóstico serológico, en donde incluyen los propios serotipos prevalentes. Este método se basa en la detección de los anticuerpos contra cada uno de los serotipos presentes en los cerdos, con el fin de determinar el estado inmune de la granja y diferenciar aquellos cerdos que fueron vacunados de los infectados.

La serotipificación se realizó en el Departamento de Grandes Especies de la Universidad de Minnesota E.U.A. y se corroboró en el Instituto de Investigación de Medicina Veterinaria de la Universidad de Iowa, por el Dr. Ross; la técnica que se empleó fue la aglutinación en placa por lo que se realizó la suspensión de la bacteria en solución formolizada al 0.1% y se enfrentó con los antisueros correspondientes a los serotipos del 1 al 9 de Actinobacillus pleuropneumoniae. Todos los Haemophilus aislados se identificaron como Actinobacillus pleuropneumoniae serotipo 1.(19)

4.6.1. Métodos de Diagnóstico de la PCP

El diagnóstico definitivo de la PCP que debe ser oportuno y rápido, y que es esencial para identificar los diferentes serotipos prevalentes en las granjas y por lo tanto en las diversas zonas porcícolas del país, permite elaborar los biológicos/reactivos adecuados para el diagnóstico y biológicos para la inmunización de los animales. En México, así como en los países latinoamericanos el diagnóstico de la PCP lo llevan a cabo de la siguiente manera:

- 1) Observación de los signos clínicos en el cerdo y en los de la zahúrda. Este método no es confiable ya que sólo los signos clínicos que se presentan en cursos agudos de la enfermedad permiten identificar la PCP, mientras que de casos crónicos pasa inadvertida. Este método no permite identificar que serotipo o serotipos están involucrados en la granja.
- 2) Observación de las lesiones a la necropsia de los animales muertos de casos agudos o durante la inspección en los centros de abasto de los casos crónicos. Para el estudio patológico se requiere de los servicios de un Médico Veterinario especialista en patología. Este método no permite identificar que serotipo o serotipos están involucrados en la granja.
- 3) Aislamiento y tipificación del Actinobacillus pleuropneumoniae de los pulmones de cerdos con problemas agudos o bien crónicos. El aislamiento y tipificación del microorganismo tarda de 48 a 72 horas, además para hacerlo es necesario contar con un laboratorio de bacteriología, todos los antisueros de Actinobacillus pleuropneumoniae (del serotipo 1 al 12) y de personal calificado.
- 4) Diagnóstico serológico que se lleva a cabo en los cerdos vivos de la granjas. El método serológico es el más adecuado ya que se puede realizar en lo animales vivos con ó sin signos clínicos no requiere del sacrificio de los cerdos, es más rápido y nos permite hacer perfiles de la enfermedad, identificando el punto de infección en la granja además permite identificar los serotipos prevalentes en la granja. Para el diagnóstico serológico de la PCP podemos mencionar las siguiente pruebas: aglutinación (20), aglutinación con partículas de látex, aglutinación en tubo con 2-mercaptoetanol (13), hemoaglutinación indirecta (12,13), fijación de complemento, prueba de inmunotransferencia o Western Blot (9) y prueba de ELISA (14).

Algunas de estas pruebas se realizan en países latinoamericanos, y aquellas que se utilizan, para el diagnóstico, las emplean para estudios de investigación ya que en sólo tres o cuatro laboratorios de universidades o institutos cuentan con infraestructura, equipo y personal capacitado.

V. MATERIALES Y METODOS

5.1. DESCRIPCION GEOGRAFICA:

Según la estación meteorológica de el Rodeo, municipio de Escuintla las 2 granjas trabajadas, la primera se ubica en el municipio de El Rodeo, Departamento de Escuintla; Latitud 14° 23' y Longitud 90° 50'; a una elevación de 740 msnm; con una temperatura promedio de 24.4 C, Humedad promedio de 66.5%, y una precipitación pluvial de 3,000 mm al año.

La otra situada en el municipio de Pastores, Sacatepequez, localizada a 14°35'35" latitud norte y 90° 45'40" longitud oeste a una elevación de 1,510 msnm; la precipitación pluvial es de 1,344 mm por año promedio y la temperatura de 15 a 23 C, perteneciendo a la zona ecológica de Bosque Húmedo Montano Bajo Subtropical.

El tipo de explotación, es intensiva, trabajando la línea genética PIC, de alto rendimiento.

Estas granjas se destinan únicamente a la finalización de los cerdos, ingresando de 12 a 13 libras de peso vivo, hasta las 200 libras aproximadamente.

Los corrales se distribuyen en segmentos de acuerdo a las edades, en lotes de 18 animales por corral. Tienen a su disposición, bebederos automáticos, tipo chupón, y los comederos húmedo-secos tipo holandés.

Además se utiliza el sistema de charcas, para mejorar las condiciones higiénicas de las instalaciones.

Las granjas poseen buenas medidas de bioseguridad.

5.2. MATERIALES:

RECURSOS HUMANOS:

El presente trabajo, se realizó teniendo el apoyo de el personal de las granjas en estudio, de cada una de las unidades donde se tomaron las muestras de sangre de los animales estudiados.

El trabajo de la extracción de muestras, obtención del suero sanguíneo y el procedimiento de la prueba, estuvo a cargo de quien presenta este trabajo.

RECURSOS BIOLÓGICOS:

370 cerdos que se seleccionaron para la obtención de las muestras, en las dos granjas estudiadas, de acuerdo con el diseño estadístico.

RECURSOS DE CAMPO:

El material con el cual se trabajó, para sujetar a los animales, son sujetadores porcinos, con los que cuentan las granjas.

Los tubos de ensayo estériles al vacío (vacutainer), agujas hipodérmicas, algodón, violeta de genciana, tapiceros, fichas de anotaciones de campo, fueron materiales que se obtuvieron del financiamiento de el presente trabajo.

RECURSOS DE LABORATORIO:

Para el presente trabajo, los materiales utilizados fueron los siguientes:

Kits de PLEUROTTEST, método de aglutinación directa.

Placas de aglutinación desechables de 12 pozos c/u

Micropipetas desechables para cada suero.

Bulbo para micropipetas

Palillos mezcladores

Reactivo A. pleuropneumoniae serotipo 1

Reactivo A. pleuropneumoniae serotipo 3

Reactivo A. pleuropneumoniae serotipo 5

Reactivo A. pleuropneumoniae serotipo 7

Tubos de ensayo estériles.

Agujas hipodérmicas 18 x 3"

Crayones marcadores

Computadora

Hojas de papel

Lapiceros y lápices

Hielera y hielo

5.3. METODO:

SELECCION DE ANIMALES A LA MUESTRA:

La población a muestrear fué de 10,000 cerdos en la etapa de ceba o engorde, en 2 granjas de una misma empresa, de los cuales se seleccionaron 370 cerdos de acuerdo al número de cerdos que la fórmula estadística nos proporcionó para tal efecto.

$$n = \frac{Nzpq}{d(N-1) + zpq}$$

$$n = \frac{10000 \times 1.96 \times 0.5 \times 0.5}{0.05(9999) + 1.96 \times 0.5 \times 0.5} = 370 \text{ cerdos.}$$

Los cerdos estaban identificados en la granja, con muescas y tatuajes en las orejas, lo cual nos permitió poder trabajar en base a la TABLA DE NUMEROS ALEATORIOS, de donde pudimos obtener los animales a muestrear, tomando el 50% de cerdos de cada granja.

PROCEDIMIENTO DE CAMPO:

Al sujetar al cerdo, se procedió a extraer sangre de la vena yugular o de la vena cava anterior, la sangre se colectó asépticamente por punción venosa en un tubo vacutainer estéril y sin anticoagulante, de donde se obtuvieron alrededor de 5 a 10 ml. de la muestra, la cual se dejó reposar por 8 horas, en refrigeración de 2 a 6 C para poder obtener el suero sanguíneo de los cerdos estudiados, el suero se tomó directamente con las micropipetas y se depositó en las placas de aglutinación.

Una vez obtenido el suero sanguíneo, se procedió a estabilizar los 4 frascos de reactivo, a temperatura ambiente (20-25 C) durante 10 a 15 minutos.(3)

RECOLECCION DE MUESTRAS DE SANGRE:

La recolección de sangre en los cerdos es difícil debido a la inaccesibilidad de venas y arterias apropiadas. Se han descrito numerosas técnicas distintas, utilizando puntos diferentes algunas de estas técnicas tienen cierta importancia en los estudios experimentales con cerdos, pero si el Médico Veterinario práctico tiene que tomar muestras de sangre de varios cerdos con cierto grado de rapidez y recoger un volumen razonable, tendrá que dominar la técnica de extracción de muestras de la vena yugular o de la vena cava anterior.

Según el tamaño del cerdo, se le inmoviliza en pié mediante una trampa para cerdos, o manualmente, sujetando las patas delanteras. La posición del cerdo en pié es importante, con la cabeza levantada el cuerpo recto y las patas delanteras bien atrás. En el cerdo en pié, se sigue el surco yugular hasta su límite caudal, justo por delante de la entrada del tórax. Se introduce la aguja en el extremo caudal del surco yugular y se dirige dorsalmente y algo caudomedialmente, siguiendo la línea imaginaria que pasa por la parte superior de la paletilla opuesta. Cuando se toman muestras de sangre de la vena cava anterior o de la vena yugular, la sangre se extrae del lado derecho del cerdo, ya que el nervio vago derecho aporta menos inervación al corazón y al diafragma. Si se punciona accidentalmente el vago el cerdo puede mostrar disnea, cianosis y forcejeo convulsivo.

Para obtener muestra de sangre de la vena yugular, se inmoviliza al cerdo en pié como el caso anterior; la aguja se introduce en el surco yugular, a unos cinco centímetros cranealmente de la entrada en el tórax. Se dirige dorsalmente y ligeramente hacia adentro.(17)

PROCEDIMIENTO DE LABORATORIO

La metodología del diagnóstico serológico de la Pleuropneumonia Contagiosa Porcina, que se utilizó en la presente investigación, es en base a lo especificado por la prueba de PLEUROTTEST, un método serológico de aglutinación directa, en la cual se diagnostica la presencia de anticuerpos circulantes de la PCP, de 4 serotipos que son el 1, 3, 5, y 7.

El PLEUROTTEST, consiste en un método rápido que no requiere de equipo especial de laboratorio, se realiza en unos pocos minutos y sólo requiere pocos mililitros de suero de los animales a estudiar. Este procedimiento está diseñado para identificar directamente los anticuerpos capsulares de Actinobacillus pleuropneumoniae, contenidos en el suero del cerdo de cualquier edad. El método rápido ofrece la oportunidad de distinguir directamente en la propia granja porcícola si un cerdo ha sido infectado con Actinobacillus pleuropneumoniae en el campo, es portador de la PCP, ó si el cerdo está sano, el cual esté o no vacunado contra la PCP.

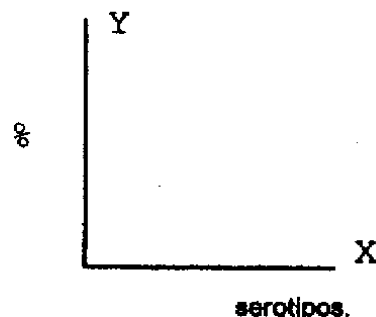
Utilizando una pipeta aplicadora se colocó una gota de suero que se analizó en cada una de las 4 celdas en la línea asignada a cada cerdo en la microplaca.

Se colocó una gota de cada reactivo de la aglutinación del serotipo a identificar en la celda que contiene la gota de suero y se mezclan con un movimiento rotatorio utilizando un palillo mezclador para la celda.

Se agitó suavemente la placa con movimiento giratorio ondulatorio, durante 4 minutos y se efectuó la lectura.

La reacción de aglutinación es muy estable, pero se recomienda que las lecturas se lleven a cabo dentro de los dos minutos después de realizada la prueba.

Los sueros de los cerdos infectados con Actinobacillus pleuropneumoniae de campo, mostraron fuerte aglutinación, mientras que los sueros de los cerdos sanos y vacunados contra la PCP permanecieron sin grumos. Los resultados se anotaron en el protocolo correspondiente y se obtuvieron los porcentajes de infectados de cada uno de los serotipos; se procedió a graficar, en la ordenada Y se anotaron los porcentajes de cada uno de los serotipos y en la ordenada X se colocaron los datos de los serotipos de las diferentes etapas de muestreo



Datos porcentuales mínimos indicaron período de incubación de la enfermedad y datos porcentuales altos indicaron que los animales están enfermos o infectados.

PLEUROTTEST fue conceptuado como prueba tamiz para detectar animales enfermos de PCP directamente en las granjas, con la ventaja de no dar falsos negativos. Los animales seropositivos podrán ser reevaluados mediante otras pruebas ya sean serológicas o bacteriológicas. Los resultados obtenidos en esta prueba ayudarán al Médico Veterinario y al porcicultor a tomar medidas adecuadas para el control y la erradicación de la PCP.(3)

EXPLICACION DE LA PRUEBA:

Los cerdos cuando se infectan con Actinobacillus pleuropneumoniae desarrollan la PCP, estos animales mueren o llegan a recuperarse. En los pulmones de los cerdos que logran sobrevivir perduran las lesiones crónicas o "secuestros" que permanecen durante toda la vida del animal y se consideran éstos como portadores sintomáticos. Si un cerdo sufre de la PCP y es portador sintomático, produce anticuerpos propios de la enfermedad. Por el contrario, si un cerdo es vacunado contra la PCP y no ha estado en contacto con Actinobacillus pleuropneumoniae desarrollan anticuerpos propios de la vacunación.

PLEUROTTEST esta diseñado para determinar si un cerdo tiene anticuerpos contra Actinobacillus pleuropneumoniae generados durante el proceso de la infección, diferenciándose aquellos anticuerpos del cerdo que han sido vacunados contra PCP.

En el caso de un cerdo infectado con PCP, su suero contiene anticuerpos específicos que reaccionan con los antígenos presentes en el reactivo produciendo una aglutinación caracterizada por la aparición de grumos en la mezcla, indicando un resultado positivo. Si se trata de un cerdo sano, el suero no contiene anticuerpos contra Actinobacillus pleuropneumoniae o si se trata de un cerdo vacunado contra PCP, el suero contiene otra clase de anticuerpos que no reaccionan con el reactivo, de tal forma que en ambos casos la aglutinación no se produce y no se observan grumos, indicando un resultado negativo.(3)

VI. ANALISIS DE DATOS:

El análisis de datos, nos permitió determinar la presencia del Actinobacillus pleuropneumoniae en las granjas, así como la prevalencia en el lote de animales de engorde en general y en cada una de las granjas estudiadas.

La presentación de resultados se realizó en cuadros y gráficas, para facilitar la interpretación de resultados.

En cuanto al análisis de datos, para prevalencia se hizo la determinación de la miema sobre la base puntual y de intervalos de confianza, del 95% y 99%.

Para la base puntual se usó la siguiente fórmula matemática

$$\text{Prevalencia} = \frac{\text{número de casos}}{\text{Población}} \times 100$$

Para los intervalos de confianza se usó la fórmula

$$IC = P \pm Z \sqrt{\frac{P(1-P)}{N}}$$

IC- intervalo de confianza

P- prevalencia

Z- Nivel de confianza del 95%

N- número de casos

VII. RESULTADOS Y DISCUSION

La presente investigación se realizó en dos granjas porcinas tecnificadas las cuales están ubicadas, una en el municipio de El Rodeo, departamento de Escuintla; y la otra en el municipio de Pastores, departamento de Sacatepequez.

Ambas tienen un tipo de explotación intensiva y trabajan con la línea genética PIC de alto rendimiento.

Se muestrearon un total de 370 cerdos comprendidos entre los grupos etáreos de 8 a 18 semanas. 166 cerdos pertenecían a la Granja número 1 y 204 cerdos pertenecían a la Granja número 2. (Cuadro 1). Todos los sueros fueron estudiados por la Prueba de Aglutinación Macroscópica en Placa PLEUROTTEST*, la cual reacciona específicamente contra los anticuerpos de Actinobacillus pleuropneumoniae, serotipos 1,3,5,y 7; yá que el microorganismo posee 7 antígenos Somáticos ("O") y 13 Capsulares ("K") , y se ha demostrado que las toxinas responsables de las lesiones pleuroneumónicas son principalmente la APX I y APX III. (ver Apéndices). Por lo tanto todos lo serotipos son patógenos, variando éstos así, los serotipos 1 y 3 son los más patógenos y les siguen los serotipos 5 y 7; pero en una granja porcina pueden aparecer de 1 o más serotipos, por lo que es conveniente determinar la fuente de infección en las madres lactantes o en el destete de los lechones.

En los porcinos estudiados en la Granja número 1, las edades fueron de 13 a 18 semanas, los cuales estaban distribuidos en 8 lotes (lotes 28 al 19) , habiéndose obtenido los siguientes resultados: el 100% (166 cerdos), reaccionaron positivamente al serotipo 5, con un intervalo de confianza del 95%, entre 98.04% y 101.96%. El 6.02% (10 cerdos), reaccionaron positivamente al serotipo 7, con un intervalo de Confianza entre 2.41% y 9.63%. El 5.42% (9 cerdos), reaccionaron positivamente al serotipo 3 con un intervalo entre 1.98% y 8.86%. El 4.82% (8 cerdos), reaccionaron al serotipo 1, con un intervalo entre 1.56% y 8.07%. (Cuadros 2 y 4.)

Los porcinos al momento de la sangría, clínicamente estaban normales, sin embargo al efectuar la prueba de Aglutinación Macroscópica, los 166 cerdos fueron positivos al serotipo 5, que es un serotipo de moderada patogenicidad, lo cual indica que los cerdos tuvieron contacto con el microorganismo, en dichas explotaciones; pudiendo desencadenar la enfermedad en el momento que encuentre las condiciones favorables, tales como stress, mal manejo etc. (Cuadros 2 y 4. Gráficas 1-8).

En los porcinos estudiados en la Granja número 2, las edades fueron distribuidas entre las 8 y 13 semanas, habiéndose muestreado un total de 204 porcinos. El 100% reaccionaron positivamente al serotipo 5 (204 cerdos), con un intervalo de confianza entre 98.04% y 101.96%; el 24.5% (50 cerdos), con un intervalo entre 18.60% y 30.40%, reaccionaron al serotipo 7; el 0.49% (1 cerdo), con un intervalo de confianza entre -0.47% y 1.45%, reaccionó al serotipo 1. Todos los cerdos fueron negativos al serotipo 3. (Cuadros 3 y 5. Gráficas 9-18).

Los resultados anteriores nos indican que en ambas explotaciones, el Actinobacillus pleuropneumoniae , se encuentra activo, principalmente los serotipos 5 y 7, habiéndose observado que en los porcinos de más edad se encontró el mayor porcentaje de reactores positivos a ambos serotipos; por lo que es conveniente en ambas granjas mantener adecuadas medidas de bioseguridad y buen manejo para evitar la presentación de casos clínicos de Pleuroneumonía Contagiosa Porcina.

* Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM)

VIII. CONCLUSIONES

- 1.- En las dos granjas porcinas investigadas, se detectaron anticuerpos circulantes contra Actinobacillus pleuropneumoniae , serotipos 1, 3, 5, y 7.
- 2.- En los porcinos de la granja 1, de 18 semanas de edad se detectaron los cuatro serotipos de Actinobacillus pleuropneumoniae .
- 3.- En ambas explotaciones porcinas, Granjas 1 y 2, se detectaron anticuerpos contra Actinobacillus pleuropneumoniae , en un 100% del serotipo 5 y 16.22% del serotipo 7.
- 4.- Hasta el momento del estudio no se habían presentado en las granjas casos clínicos de Pleuroneumonía Contagiosa Porcina que afecten la producción.

IX. RECOMENDACIONES

- 1.- Es importante realizar perfiles serológicos en los porcinos, para poder determinar en que fase de la producción en las granjas, es donde se debe realizar un programa profiláctico para reducir los riesgos de exacerbación de la enfermedad.
- 2.- Se sugiere la inclusión de un plan vacunal a la piara, para prevenir la Pleuropneumonía Contagiosa Porcina, la cual a pesar de no tener casos clínicos agudos ni crónicos, puede iniciarse, al presentarse un factor inmunodepresivo, con lo cual el cuadro se complica al haber más de un agente causal de la enfermedad.
- 3.- En la fase de maternidad de las granjas, se debe realizar el primer perfil serológico, con el fin de descartar o de identificar si es en ésta fase donde se inicia el contagio de Actinobacillus pleuropneumoniae, causante de la Pleuroneumonía Contagiosa Porcina.
- 4.- Realizar evaluaciones de éste tipo en todas las explotaciones porcinas del país, con el fin de determinar la prevalencia de la enfermedad, o presencia de anticuerpos de Actinobacillus pleuropneumoniae, en Guatemala, con lo que se facilitará el control de la Pleuroneumonía Contagiosa Porcina, y así se optimizará la producción porcina, preparándose con eficiencia para la apertura futura de los mercados de la carne de cerdo a nivel internacional.
- 5.- Se deben realizar pruebas serológicas a nivel de campo y de laboratorio, para conocer cual es la realidad de la patología porcina en las granjas de Guatemala.
- 6.- Es conveniente establecer prácticas de manejo que faciliten el control y erradicación de enfermedades que afectan a las piaras, para poder declarar las áreas de producción libres y así llegar en un futuro cercano a declarar al país libre de las enfermedades que limitan el poder comercializar la carne de cerdo y derivados en el extranjero.
- 7.- Apoyar el estudio y diagnóstico clínico, bacteriológico y serológico, para la identificación de los gérmenes patógenos, que hacen disminuir los rendimientos de las nuevas líneas genéticas que están capacitadas en producir, las cuales al ser afectadas en su salud, reducen su potencial genético y de rendimiento

X. RESUMEN

En la presente investigación, se realizó el diagnóstico serológico para detectar la presencia de anticuerpos circulantes contra Actinobacillus pleuropneumoniae, agente etiológico de la Pleuroneumonía Contagiosa Porcina (PCP), en cerdos de dos Granjas Tecnificadas, de la línea genética PIC, apoyados con el kit de PLEUROTTEST*, el cual se basa en el principio de aglutinación rápida en placa, detectando los serotipos patógenos 1, 3, 5 y 7.

En las dos Granjas Tecnificadas se muestró un total de 370 cerdos en los cuales se determinó que el serotipo 5 está presente en el 100% de los cerdos.

El serotipo 7 está presente en un 16.22% de los cerdos estudiados en ambas granjas.

Los serotipos 1 y 3, reaccionaron positivamente en un 2.43% del total de la muestra estudiada.

Con los resultados anteriores, se determinó que existe la presencia de anticuerpos circulantes en los cerdos de las dos Granjas Tecnificadas estudiadas, sin que se presenten casos clínicos de la enfermedad.

En base a lo anterior, se recomienda realizar monitoreos y perfiles serológicos en todos los cerdos, para poder determinar en que fase de la producción de las granjas, existe el riesgo de tener contacto con la bacteria causante de la enfermedad. Además, es conveniente realizar pruebas de campo en las áreas de producción porcina en Guatemala, para determinar la presencia de la enfermedad en el país.

* Universidad Nacional Autónoma de México. UNAM.

SUMMARY

In the present investigation, it was realized the serum diagnostic to detect the presence of circulating antibodies against Actinobacillus pleuropneumoniae, etiologic agent of the pigs of two technicised farms of the genetic line PIC, supported with the kit of PLEUROTTEST, which is based in the fast agglutination principle in plaque, detecting the pathogenics serotypes 1, 3, 5 and 7.

In the two technicised farms was shown a total of 370 pigs in which was determined that the serotype 5 is presented in 100% of pigs.

The serotype 7 is present in 16.22% of the studied pigs in both farms.

In the serotype 1 and 3, 2.43% reacted positively that was the total of the studied shown.

With the above results, it was determined that the presence of the circulating antibodies in pigs of the two studied technicised farms, exists, without any illness clinical case.

In basis with these, we recommend to realize monitory and serum profiles in every pig, to determine in which phase of the farm production, exist the risk to have contact with the illness originator bacterium.

Furthermore, is convenient to realize trial field in the hoggish production areas in Guatemala, to determine the presence of these illness in the country.

VI BIBLIOGRAFIA

1. AVANCES RECIENTES EN EL CONOCIMIENTO DE LA ETIOLOGIA, DIAGNOSTICO E INMUNOPREVENCIÓN DE LA PLEUROPNEUMONIA PORCINA. (13, 1992, Salamanca, Esp.). 1992. [Simposium] Ed. por E.F. Rodríguez Ferri; C.B. Gutiérrez Martín. Salamanca, Esp., Universidad de León, Depto. de Patología Animal, Asociación Nacional de Porcicultores. p. 1-5
2. CIPRIAN, C.A. *et al.* 1988. Serotipificación de Haemophilus pleuropneumoniae aislados de cerdos en México. *Veterinaria de México (Mex.)* 19(3):205-210.
3. ———.; COLMENARES, V.G.; MENDOZA, E.S. 1980. La enfermedad en México, Actinobacillus pleuropneumoniae. Asociación Mexicana de Veterinarios Especialistas en cerdos. Guadalajara, Jal. Méx. p. 32
4. CONGRESO NACIONAL DE LA ASOCIACION MEXICANA DE VETERINARIOS ESPECIALISTAS EN CERDOS. (27, 1992, ACAPULCO, GRO). 1992. Epizootiología de Actinobacillus pleuropneumoniae: papel de los roedores y pajaros en la transmisión de la Pleuropneumonia Contagiosa Porcina PCP. [Memoria] . Ed. por G.M Carrion *et al.* Acapulco, Gro., Asociación Mexicana de Veterinarios Especialistas en Cerdos. p.54.
5. DIAZ, C. *et al.* 1989. Identificación de diferentes serotipos de Actinobacillus pleuropneumoniae, aislados en México de cerdos con pleuropneumonia, de 1985 a 1988. *Veterinaria de México (Méx.)* 20(3):157-160.
6. DIDER, P.J.; PERINO, L.; URBANCE, J. 1984. Porcine Haemophilus pleuropneumoniae. Microbiologic and pathologic fin-findings. *Journal of the American Veterinary Medical Association (II.)* 184(2):716-719.
7. FENWICK, B. 1990. Diagnóstico de pleuropneumonia contagiosa porcina en laboratorio. Compendio sobre Actinobacillus pleuropneumoniae. Guadalajara, Jal. Méx., Asociación Mexicana de Veterinarios Especialistas en Cerdos. p.17-22.



8. FREESE, W. 1990. Síndrome clínico y procedimientos de tratamiento para Actinobacillus pleuropneumoniae. Guadalajara, Jal. Méx., Asociación Mexicana de Veterinarios Especialistas en Cerdos. p.9-15.
9. GUNNARSON, A. 1979. Evaluation of diferents antigens in the complement fixation test for diagnosis of Haemophilus pleuropneumoniae infections in swine. American Journal of Veterinary Research (EE.UU.) 40(11):1564-1567.
10. INZANA, T.J. 1990. Propiedades biofísicas y de virulencia de Actinobacillus pleuropneumoniae. Guadalajara, Jal. Méx., Asociacion Mexicana de Veterinarios Especialistas en Cerdos. p.1-8.
11. -----; CLARK, G.F.; TODD, J. 1990. Detection of serotype specific antibodies or capsular antigens of Actinobacillus leuropneumoniae by a double label radioimmunoassay. Journal of Clinical Microbiology (EE.UU.) 28(3):312-318.
12. JACQUES, M.; ROY, G.; MITTAL, K.R. 1988. Hemoagglutinating properties of Actinobacillus pleuropneumoniae. Canadian Journal of Microbiology (Canadá) 34(8):1046-1049.
13. MEMORIAS DE LA REUNION ANUAL DE INVESTIGACION PECUARIA EN MEXICO (1987, D.F., México). 1987. Patogenicidad de Haemophilus pleuropneumoniae en animales de laboratorio. Ed. por Tenorio, G.V. et al. D.F., México, Secretaría de Agricultura y Recursos Hidráulicos/UNAM. P. 9-15
14. MITTAL, K.R. et al. 1983. Determination of antigenic specifity and relationship among Haemophilus pleuropneumoniae serotypes by an indirect hemagglutination test. Journal Clinical of Microbiology (EE.UU.) 17(5):787.
15. NICOLET, J.; KRAWINKLER, M.; BAUMGARTNER, A. 1981. An enzyme linked immunoabsorbent assay, using an EDTA-extracted antigen for the serology of Haemophilus pleuropneumoniae. American Journal of Veterinary Research (EE.UU.) 42(11): 3129-3132.



16. PROCEEDING OF INTERNATIONAL PIG VETERINARY SOCIETY (6., 1980, COPENHAGEN, DENMARK). 1980. The use of Agglutination test in the serological diagnosis of Haemophilus pleuropneumoniae infections in pigs. Ed. by Yakamoto, K.; Ogata, M. Copenhagen, Denmark, International Pig of Veterinary Society. p. 218.
17. ———. (12., 1992, THE HAGUE, NETHERLAND). 1992. Biological and Chromatographic characterization of the cytotoxins of Actinobacillus pleuropneumoniae. Ed. by Rycraft, A.N. The Hague, Netherland, International Pig of Veterinary Society. p. 183.
18. ———. (12., 1992, THE HAGUE, NETHERLAND). 1992. Induction of pneumonic lesions by recombinant cytolisins of Actinobacillus pleuropneumoniae. Ed. by Smiths, M. et al. The Hague, Netherland, International Pig of Veterinary Society. p. 187.
19. ———. (12., 1992, THE HAGUE, NETHERLAND). 1992. Serological diagnostic with Pleurotest and microbiology study of Actinobacillus pleuropneumoniae in samples collected at slaughter house. Ed. by Torres, O. et al. The Hague, Netherland, International Pig of Veterinary Society. p. 224.
20. STRAW, B.; WILSON, M. 1989. Diagnóstico de enfermedades Porcinas. 2 ed. EE.UU., Pig World Inc. p. 206.



XII. ANEXOS

CUADRO 1: TAMAÑO DE MUESTRA. CERDOS INVESTIGADOS PARA DETERMINAR LA PRESENCIA DE PLEURONEUMONIA CONTAGIOSA PORCINA EN DOS GRANJAS TECNIFICADAS EN GUATEMALA 1998

GRANJA	No. de Muestras	Porcentaje
No. 1*	166	44.86
No. 2 **	204	55.14
TOTAL	370	100

* Cerdos de engorde de 13 a 18 semanas de edad

**Cerdos de engorde de 8 a 13 semanas de edad

CUADRO 2: RESULTADOS DE LA PRUEBA DE PLEUROTTEST PARA IDENTIFICAR ANTICUERPOS CIRCULANTES CONTRA *Actinobacillus pleuropneumoniae* EN LA GRANJA PORCINA TECNIFICADA NUMERO 1. GUATEMALA ABRIL-MAYO 1998.

LOTE No.	Edad semanas	Número de Muestras	SEROTIPO 1				SEROTIPO 3				SEROTIPO 5				SEROTIPO 7			
			Posit.	%	Neg.	%	Posit.	%	Neg.	%	Posit.	%	Neg.	%	Posit.	%	Neg.	%
19	18	20	7	35	13	65	9	45	11	55	20	100	0	0	1	5	19	95
22	16	20	1	5	19	95	0	0	20	100	20	100	0	0	0	0	20	100
23	16	20	0	0	20	100	0	0	20	100	20	100	0	0	0	0	20	100
24	15	20	0	0	20	100	0	0	20	100	20	100	0	0	0	0	20	100
25	15	22	0	0	22	100	0	0	22	100	22	100	0	0	0	0	22	100
26	14	22	0	0	22	100	0	0	22	100	22	100	0	0	0	0	22	100
27	14	22	0	0	22	100	0	0	22	100	22	100	0	0	0	0	22	100
28	13	20	0	0	20	100	0	0	20	100	20	100	0	0	9	45	11	55
Total		166	8	4.82	158	95.18	9	5.42	157	95	166	100	0	0	10	6.02	156	94

CUADRO 3: RESULTADOS DE LA PRUEBA DE PLEUROTTEST PARA IDENTIFICAR ANTICUERPOS CIRCULANTES CONTRA *Actinobacillus pleuropneumoniae* EN LA GRANJA PORCINA TECNIFICADA NUMERO 2. GUATEMALA ABRIL-MAYO 1998.

LOTE No.	EDAD semanas	No. de Muestras	SEROTIPO 1				SEROTIPO 3				SEROTIPO 5				SEROTIPO 7			
			Posit.	%	Neg	%	Posit	%	Neg	%	Posit	%	Neg	%	Posit	%	Neg	%
29	13	20	0	0	20	100	0	0	20	100	20	100	0	0	4	20	16	80
30	12	20	0	0	20	100	0	0	20	100	20	100	0	0	0	0	20	100
31	12	20	0	0	20	100	0	0	20	100	20	100	0	0	0	0	20	100
32	11	22	1	5	21	95	0	0	22	100	22	100	0	0	0	0	22	100
33	11	22	0	0	22	100	0	0	22	100	22	100	0	0	0	0	22	100
33 A	10	20	0	0	20	100	0	0	20	100	20	100	0	0	0	0	20	100
34	10	20	0	0	20	100	0	0	20	100	20	100	0	0	7	35	13	65
35	9	20	0	0	20	100	0	0	20	100	20	100	0	0	12	60	8	40
36	9	20	0	0	20	100	0	0	20	100	20	100	0	0	12	60	8	40
37	8	20	0	0	20	100	0	0	20	100	20	100	0	0	15	75	5	25
Total		204	1	0.49	203	99.5	0	0	204	100	204	100	0	0	50	24.5	154	75.5

CUADRO 4: INTERVALO DE CONFIANZA DE LOS RESULTADOS DE LA PRUEBA DE PLEUROTTEST, PARA LA DETECCIÓN DE PLEURONEUMONIA CONTAGIOSA PORCINA EN LA GRANJA PORCINA TECNIFICADA No. 1. GUATEMALA ABRIL-MAYO DE 1998

LOTE	Edad Semanas	Muestras	SEROTIPO 1		SEROTIPO 3		SEROTIPO 5		SEROTIPO 7	
19	18	20	14.10%	55.90%	23.20%	66.80%	98.04%	101.96%	4.55%	14.55%
22	16	20	4.55%	14.55%	0	0	98.04%	101.96%	0.00%	0
23	16	20	0	0	0	0	98.04%	101.96%	0	0
24	15	20	0	0	0	0	98.04%	101.96%	0	0
25	15	22	0	0	0	0	98.04%	101.96%	0	0
26	14	22	0	0	0	0	98.04%	101.96%	0	0
27	14	22	0	0	0	0	98.04%	101.96%	0	0
28	13	20	0	0	0	0	98.04%	101.96%	23.20%	66.80%
	TOTAL	166	1.56%	8.07%	1.98%	8.86%	98.04%	101.96%	2.41%	9.63%

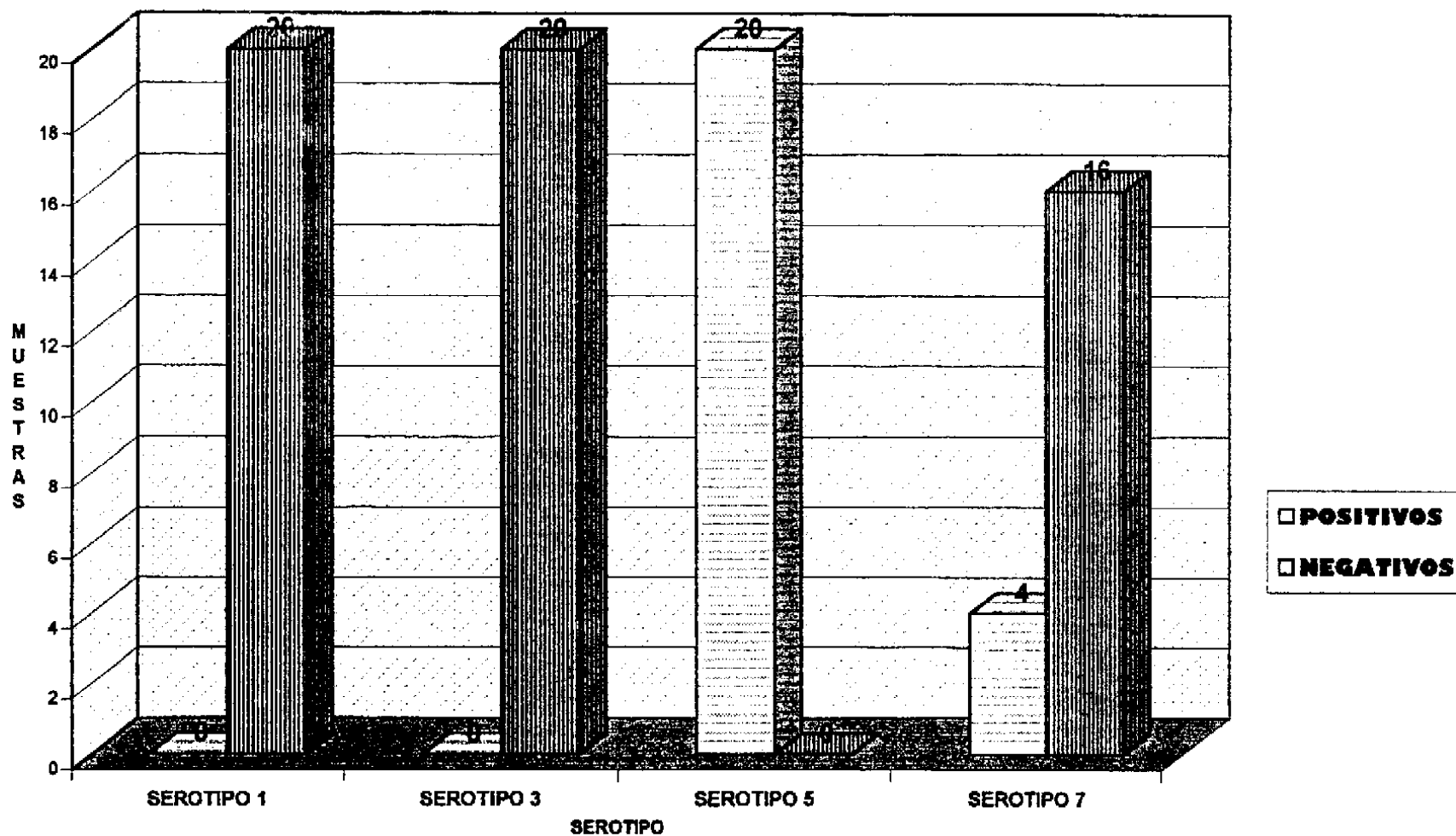
CUADRO 5: INTERVALO DE CONFIANZA DE LOS RESULTADOS DE LA PRUEBA DE PLEUROTTEST, PARA LA DETECCION DE PLEUROPNEUMONIA CONTAGIOSA PORCINA EN LA GRANJA PORCINA TECNIFICADA No. 2. GUATEMALA ABRIL-MAYO DE 1998

LOTE	Edad Semanas	Muestras	SEROTIPO 1		SEROTIPO 3		SEROTIPO 5		SEROTIPO 7	
29	13	20	0	0	0	0	98.04%	101.96%	2.47%	37.53%
30	12	20	0	0	0	0	98.04%	101.96%	0	0
31	12	20	0	0	0	0	98.04%	101.96%	0	0
32	11	22	4.10%	14.10%	0	0	98.04%	101.96%	0	0
33	11	22	0	0	0	0	98.04%	101.96%	0	0
33 A	10	20	0	0	0	0	98.04%	101.96%	0	0
34	10	20	0	0	0	0	98.04%	101.96%	14.10%	55.90%
35	9	20	0	0	0	0	98.04%	101.96%	38.53%	81.47%
36	9	20	0	0	0	0	98.04%	101.96%	38.53%	81.47%
37	8	20	0	0	0	0	98.04%	101.96%	56.03%	76.96%
TOTAL		204	-0.47%	1.45%	0	0	98.04%	101.96%	18.60%	30.40%

CUADRO 6: PORCENTAJE DE REACTORES POSITIVOS A LA PRUEBA DE PLEUROTTEST DETERMINANDO LA PRESENCIA DE ANTICUERPOS CIRCULANTES CONTRA Actinobacillus pleuropneumoniae EN DOS GRANJAS TECNIFICADAS EN GUATEMALA. ABRIL-MAYO DE 1998

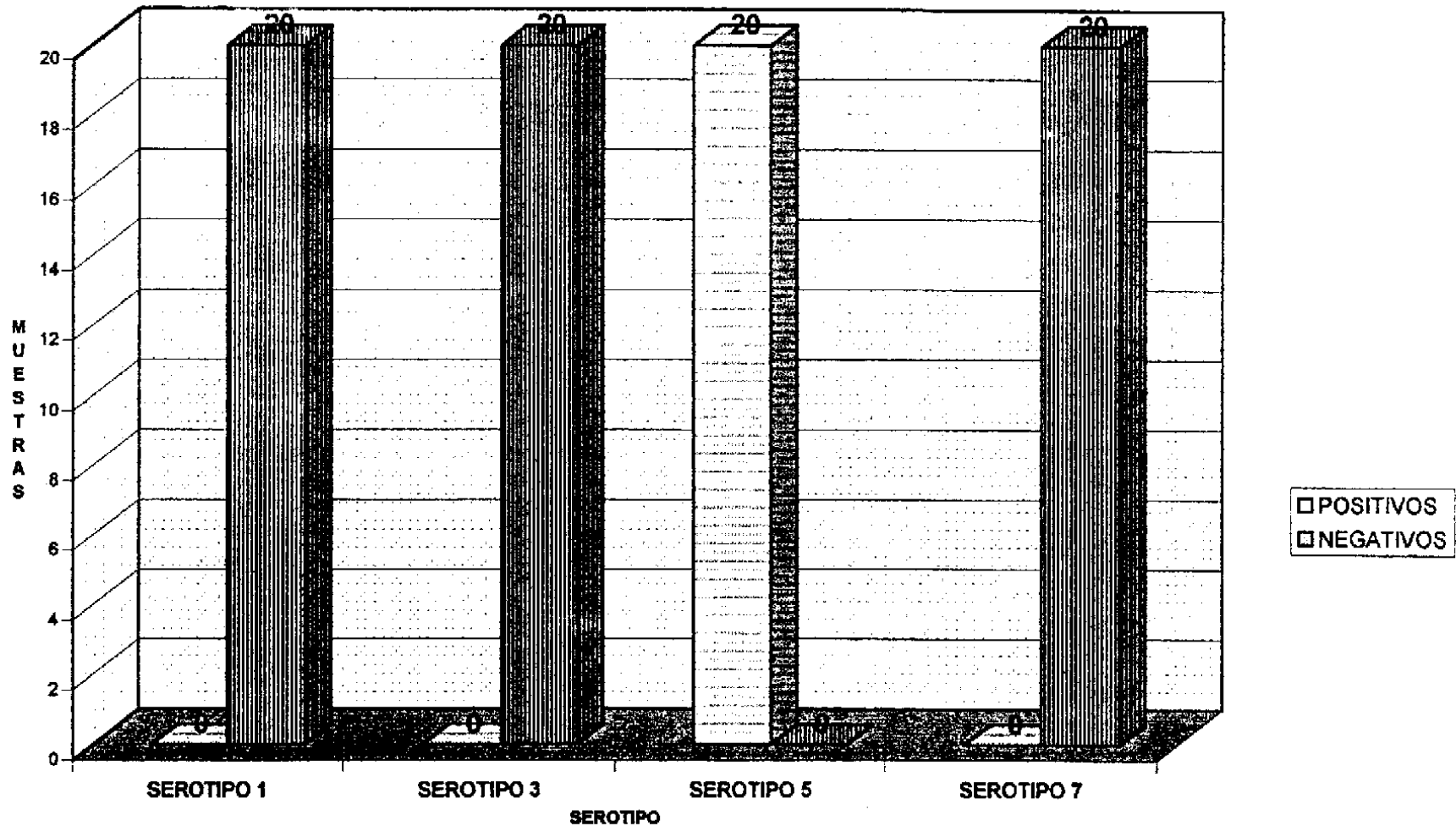
GRANJA	No. de Muestras	POSITIVOS A SEROTIPOS DE PLEURONEUMONIA CONTAGIOSA PORCINA							
		Serotipo 1	Porcentaje	Serotipo 3	Porcentaje	Serotipo 5	Porcentaje	Serotipo 7	Porcentaje
No. 1	166	8	4.82	9	5.42	166	100	10	6.02
No. 2	204	1	0.49	0	0	204	100	50	24.5
TOTAL	370	9	2.43	9	2.43	370	100	60	16.22

LOTE 19



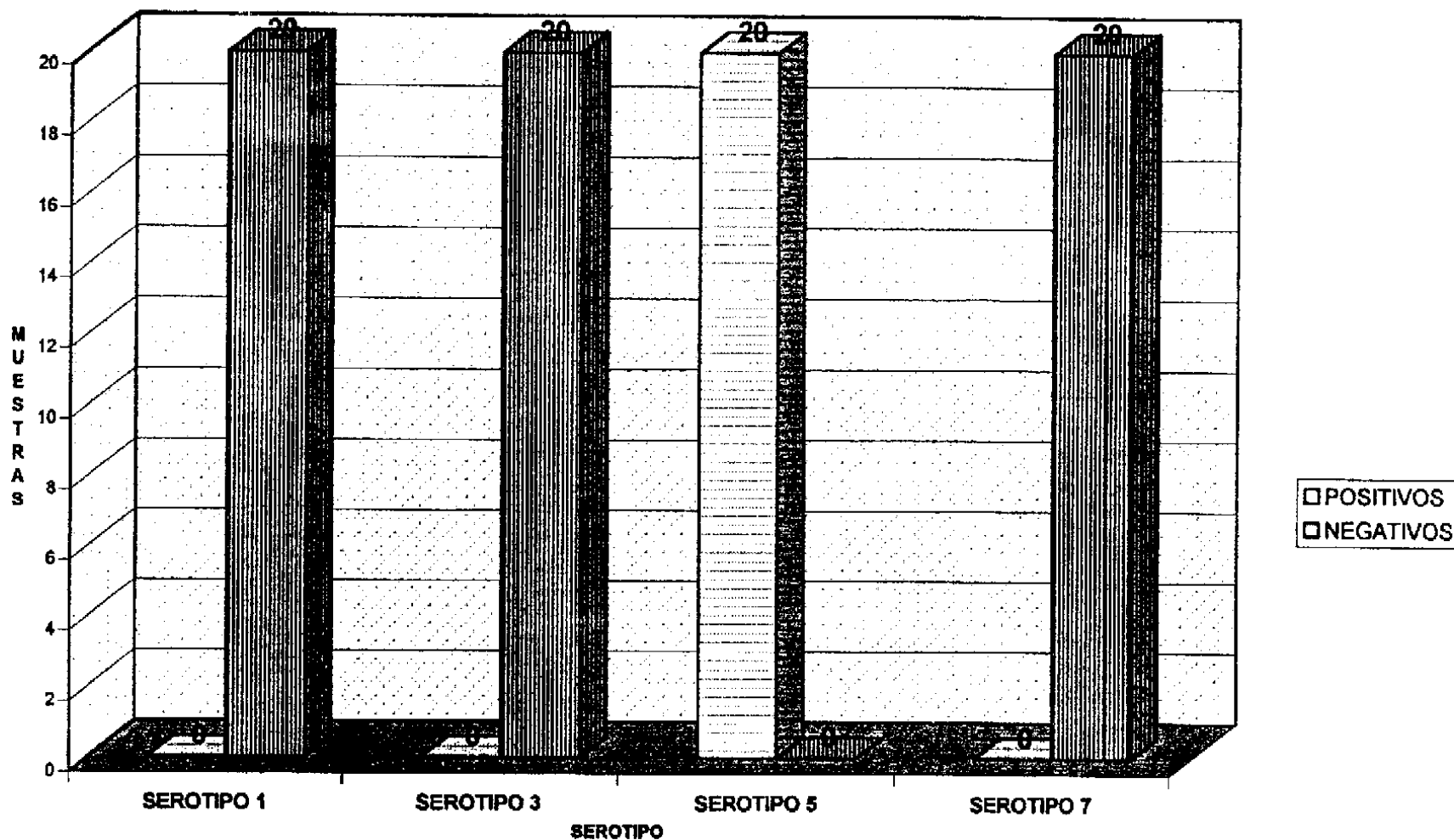
GRAFICA 1: DISTRIBUCION DE LOS RESULTADOS DE LA PRUEBA SEROLOGICA PLEUROTTEST* PARA DETECTAR LA PRESENCIA DE ANTICUERPOS CIRCULANTES CONTRA *Actinobacillus pleuropneumoniae* EN CERDOS DE 18 SEMANAS DE EDAD EN GRANJA 1 TECNIFICADA. GUATEMALA, FEBRERO-MARZO DE 1998.

LOTE 22



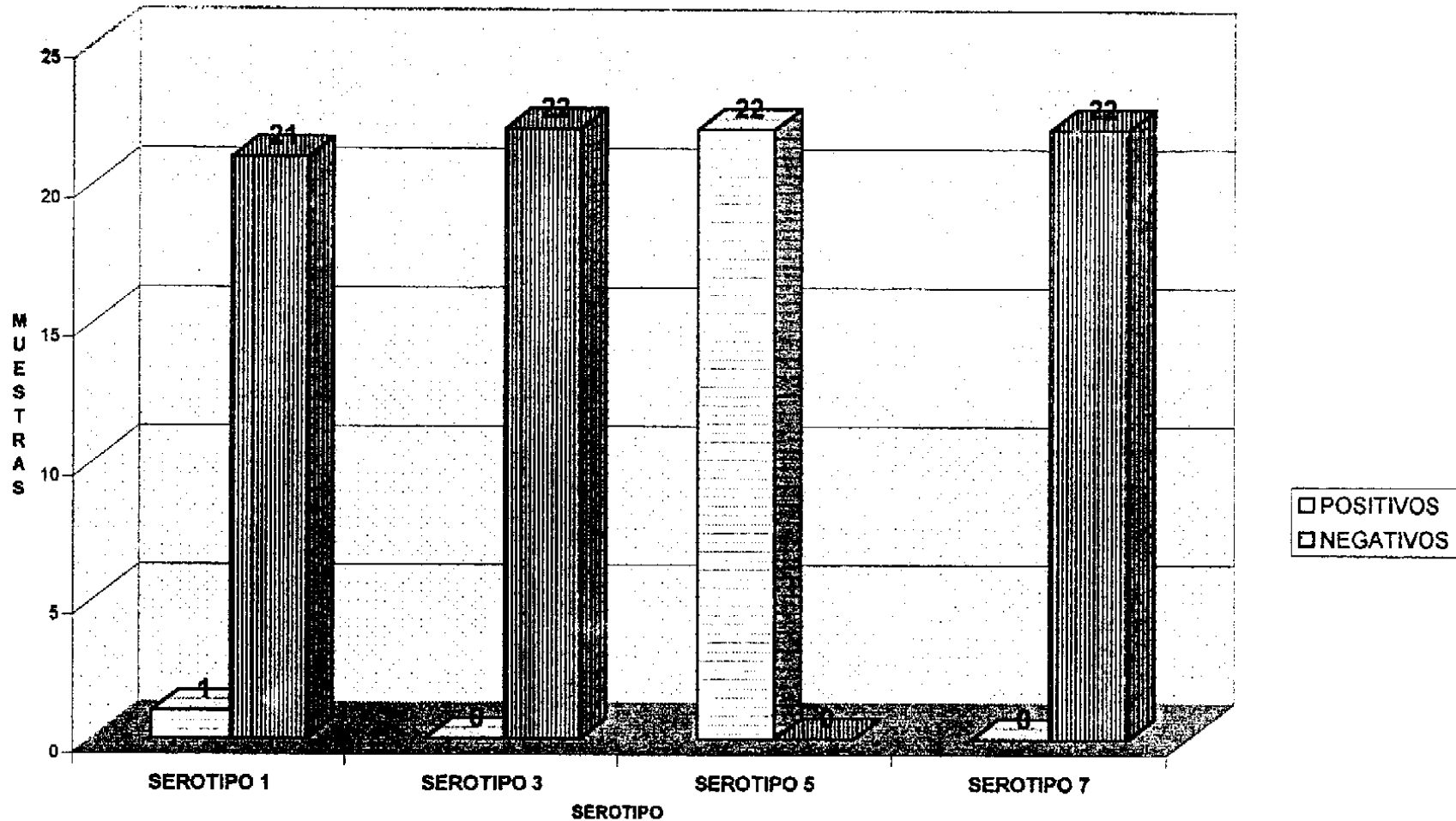
GRAFICA 2: DISTRIBUCION DE LOS RESULTADOS DE LA PRUEBA SEROLOGICA PLEUROTTEST* PARA DETECTAR LA PRESENCIA DE ANTICUERPOS CIRCULANTES CONTRA Actinobacillus pleuropneumoniae EN CERDOS DE 16 SEMANAS DE EDAD EN GRANJA 1 TECNIFICADA. GUATEMALA, FEBRERO-MARZO DE 1998.

LOTE 23



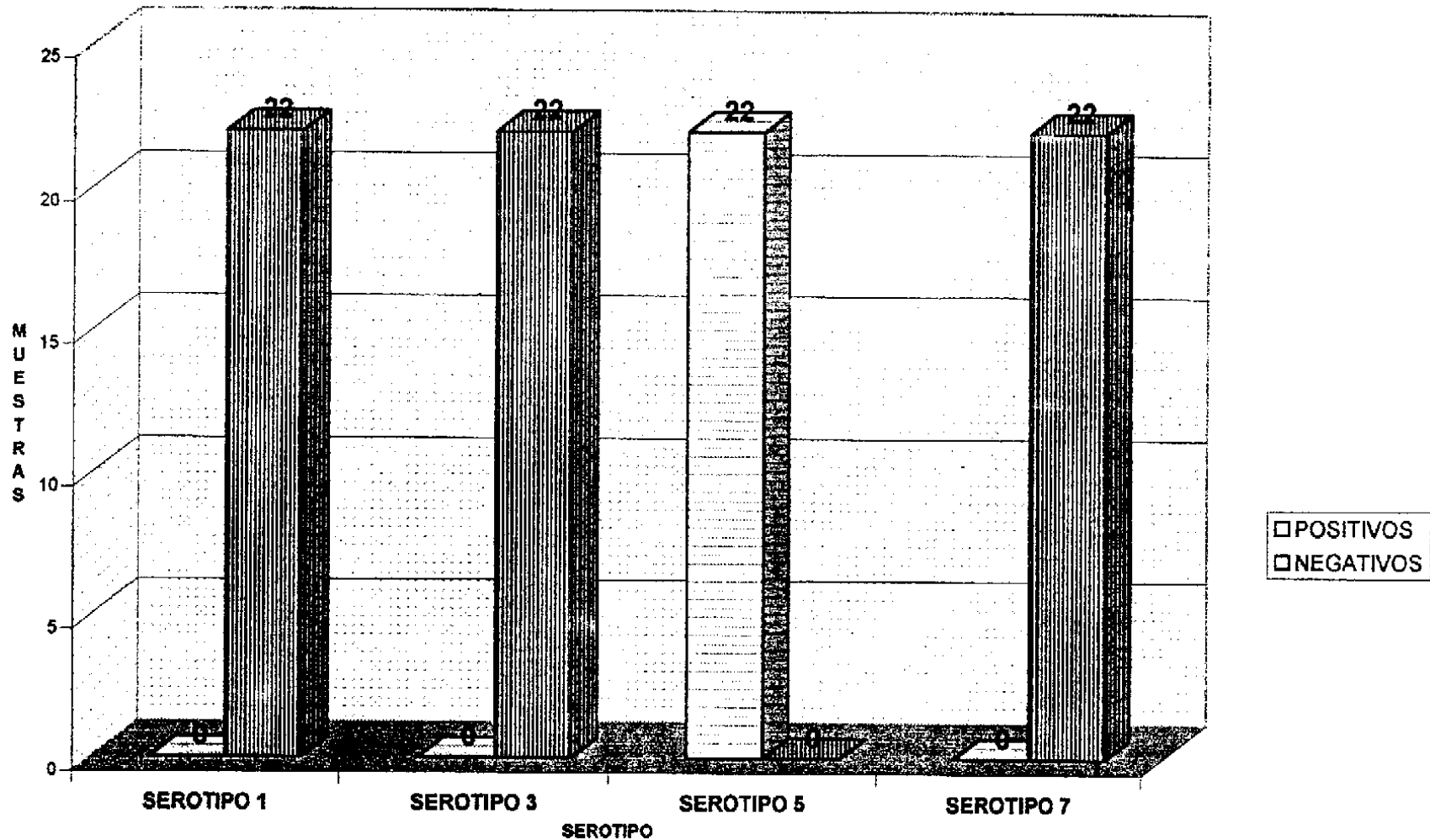
GRAFICA 3: DISTRIBUCION DE LOS RESULTADOS DE LA PRUEBA SEROLOGICA PLEUROTTEST* PARA DETECTAR LA PRESENCIA DE ANTICUERPOS CIRCULANTES CONTRA *Actinobacillus pleuropneumoniae* EN CERDOS DE 16 SEMANAS DE EDAD EN GRANJA 1 TECNIFICADA. GUATEMALA, FEBRERO-MARZO DE 1998.

LOTE 24



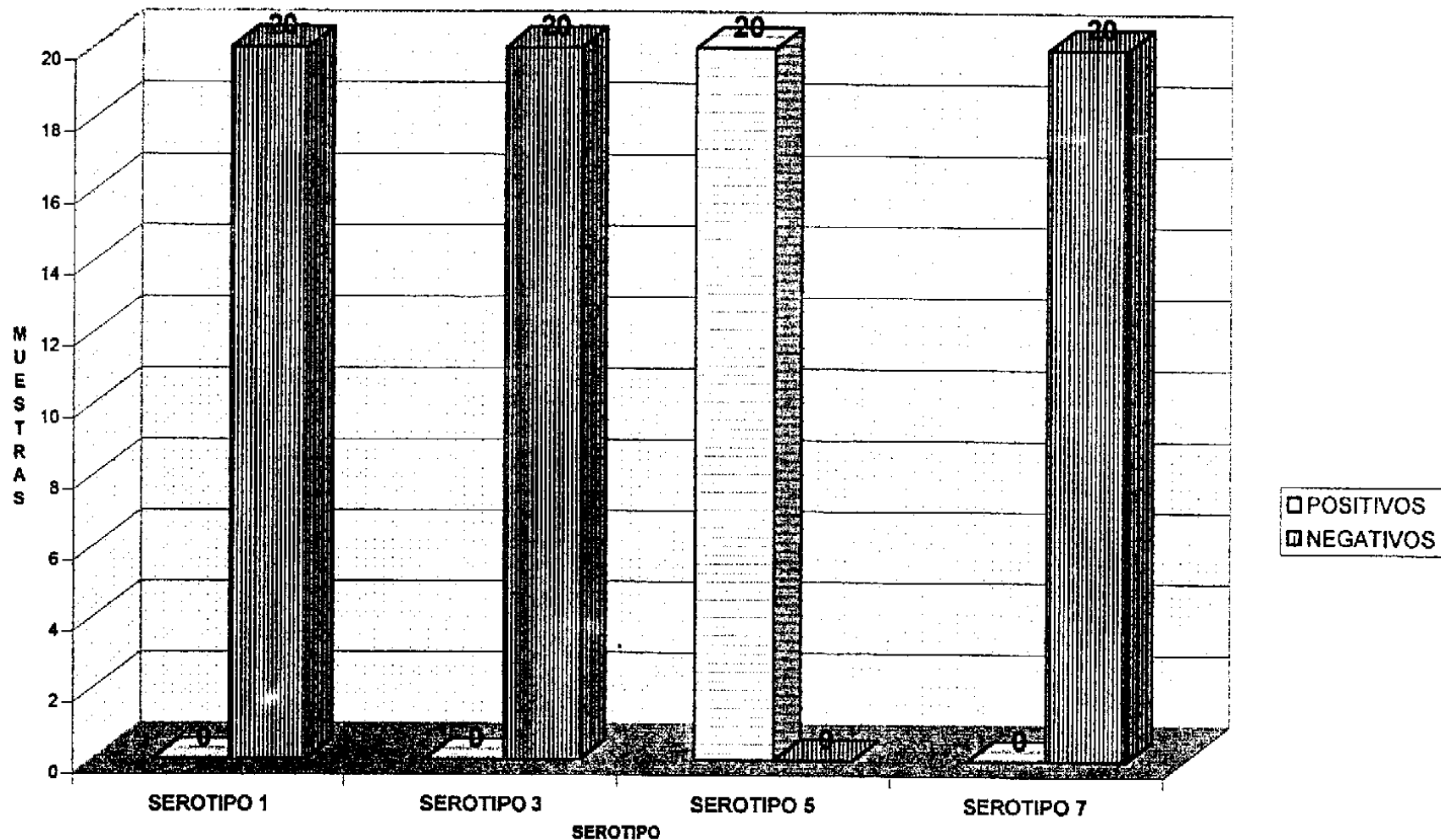
GRAFICA 4: DISTRIBUCION DE LOS RESULTADOS DE LA PRUEBA SEROLOGICA PLEUROTTEST* PARA DETECTAR LA PRESENCIA DE ANTICUERPOS CIRCULANTES CONTRA Actinobacillus pleuropneumoniae EN CERDOS DE 15 SEMANAS DE EDAD EN GRANJA 1 TECNIFICADA. GUATEMALA, FEBRERO-MARZO DE 1998.

LOTE 25



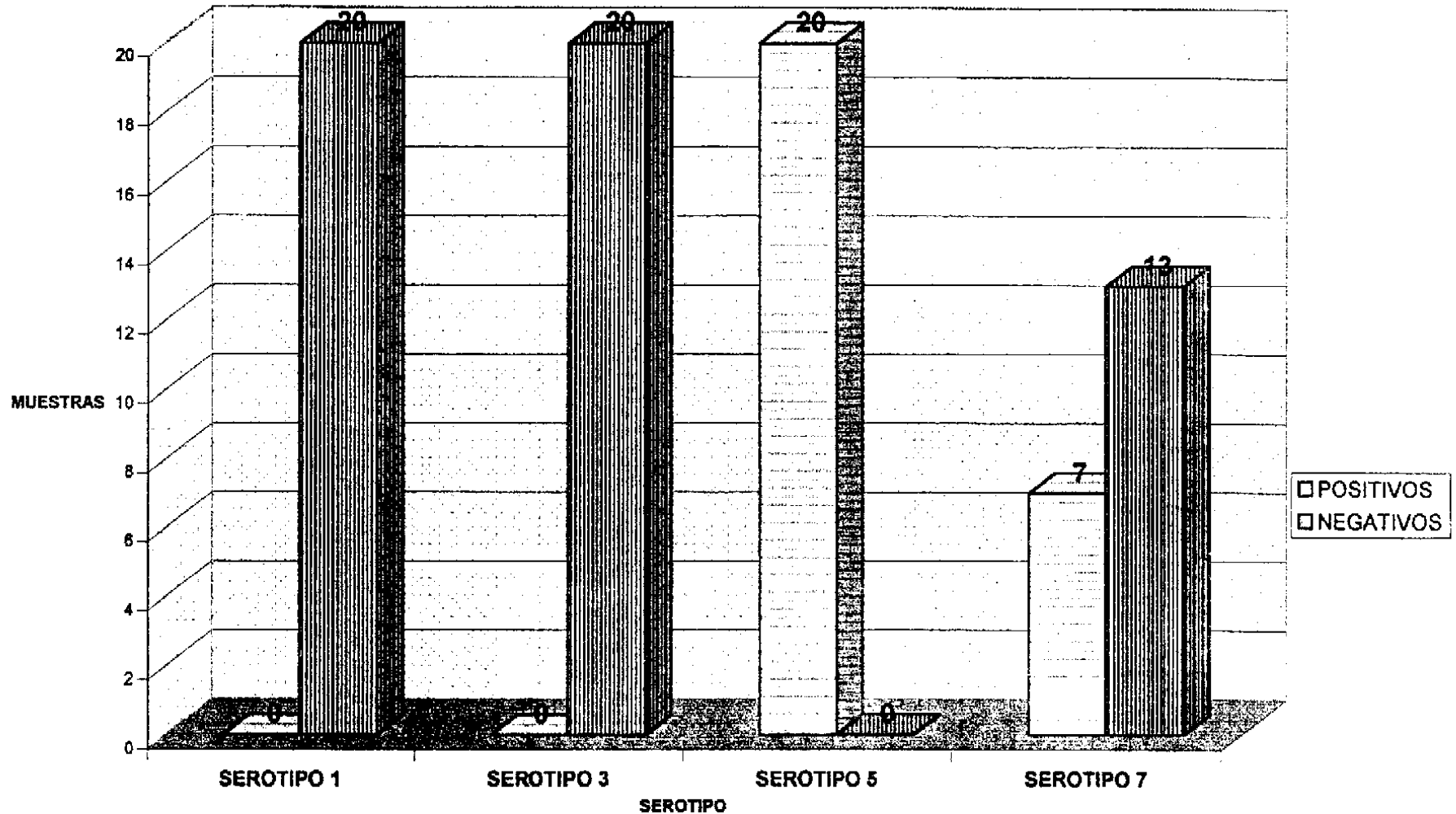
GRAFICA 5: DISTRIBUCION DE LOS RESULTADOS DE LA PRUEBA SEROLOGICA PLEUROTTEST* PARA DETECTAR LA PRESENCIA DE ANTICUERPOS CIRCULANTES CONTRA *Actinobacillus pleuropneumoniae* EN CERDOS DE 15 SEMANAS DE EDAD EN GRANJA 1 TECNIFICADA. GUATEMALA, FEBRERO-MARZO DE 1998.

LOTE 26



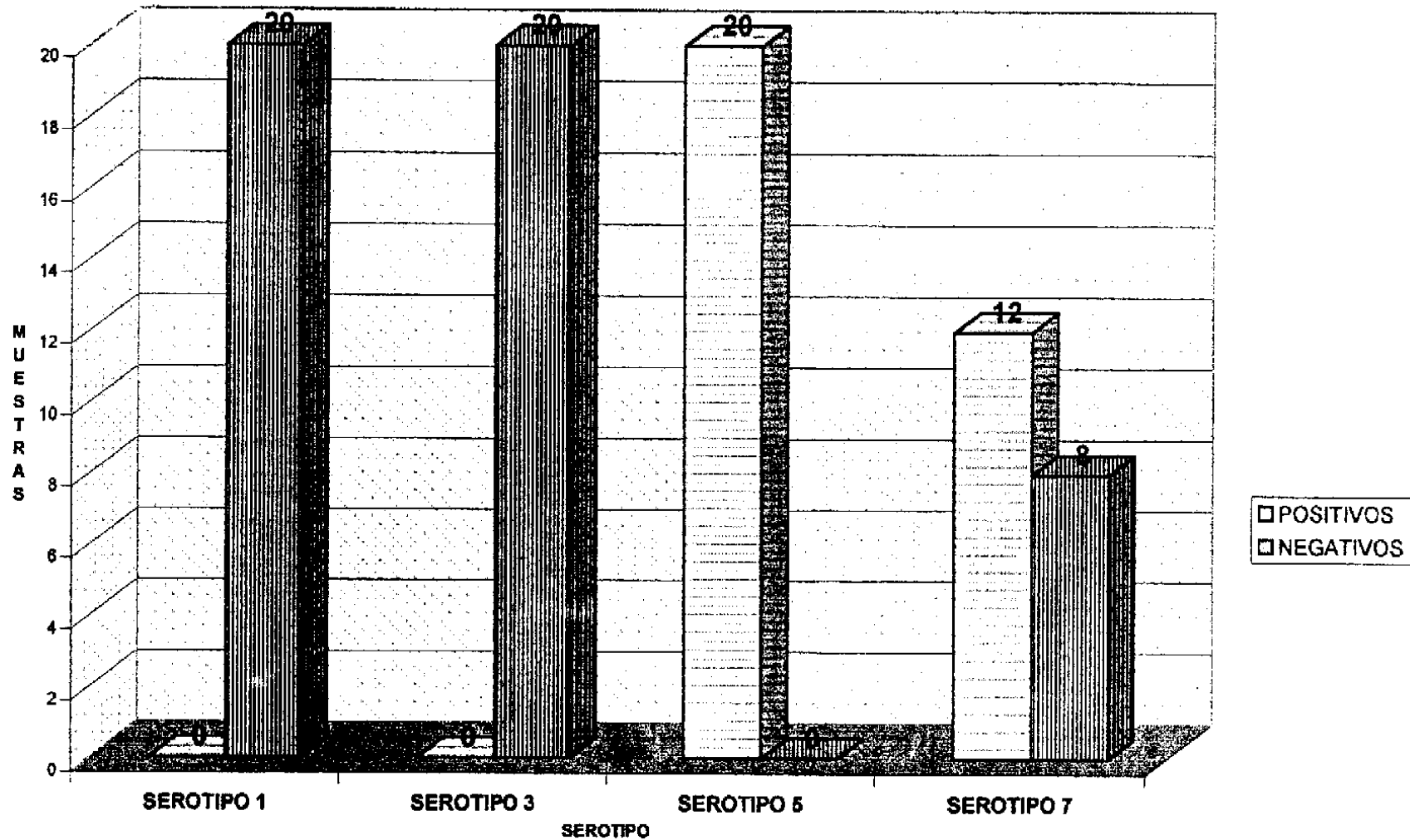
GRAFICA 6: DISTRIBUCION DE LOS RESULTADOS DE LA PRUEBA SEROLOGICA PLEUROTTEST* PARA DETECTAR LA PRESENCIA DE ANTICUERPOS CIRCULANTES CONTRA Actinobacillus pleuropneumoniae EN CERDOS DE 14 SEMANAS DE EDAD EN GRANJA 1 TECNIFICADA. GUATEMALA, FEBRERO-MARZO DE 1998.

LOTE 27



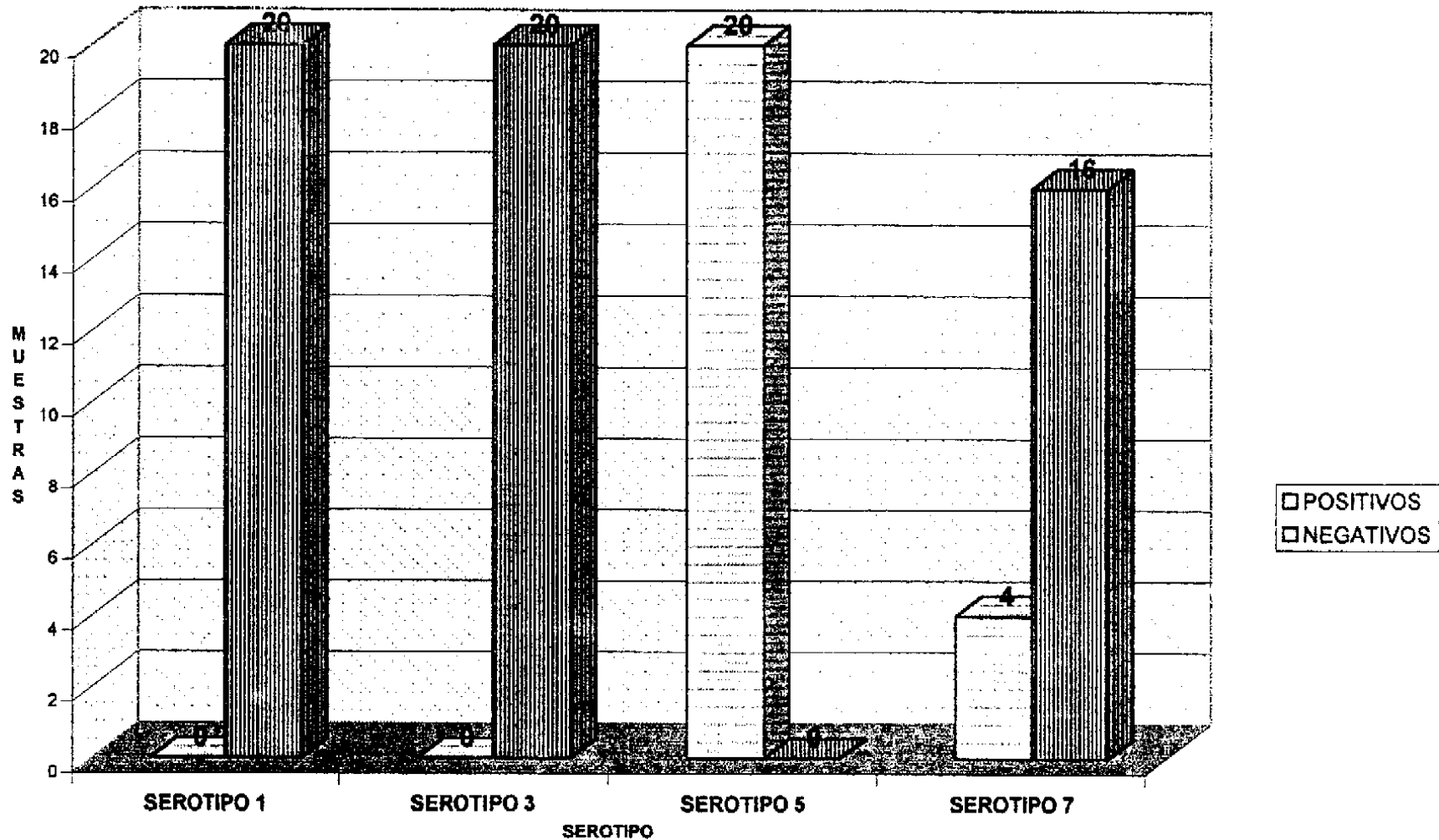
GRAFICA 7: DISTRIBUCION DE LOS RESULTADOS DE LA PRUEBA SEROLOGICA PLEUROTTEST* PARA DETECTAR LA PRESENCIA DE ANTICUERPOS CIRCULANTES CONTRA *Actinobacillus pleuropneumoniae* EN CERDOS DE 14 SEMANAS DE EDAD EN GRANJA 1 TECNIFICADA. GUATEMALA, FEBRERO-MARZO DE 1998.

LOTE 28



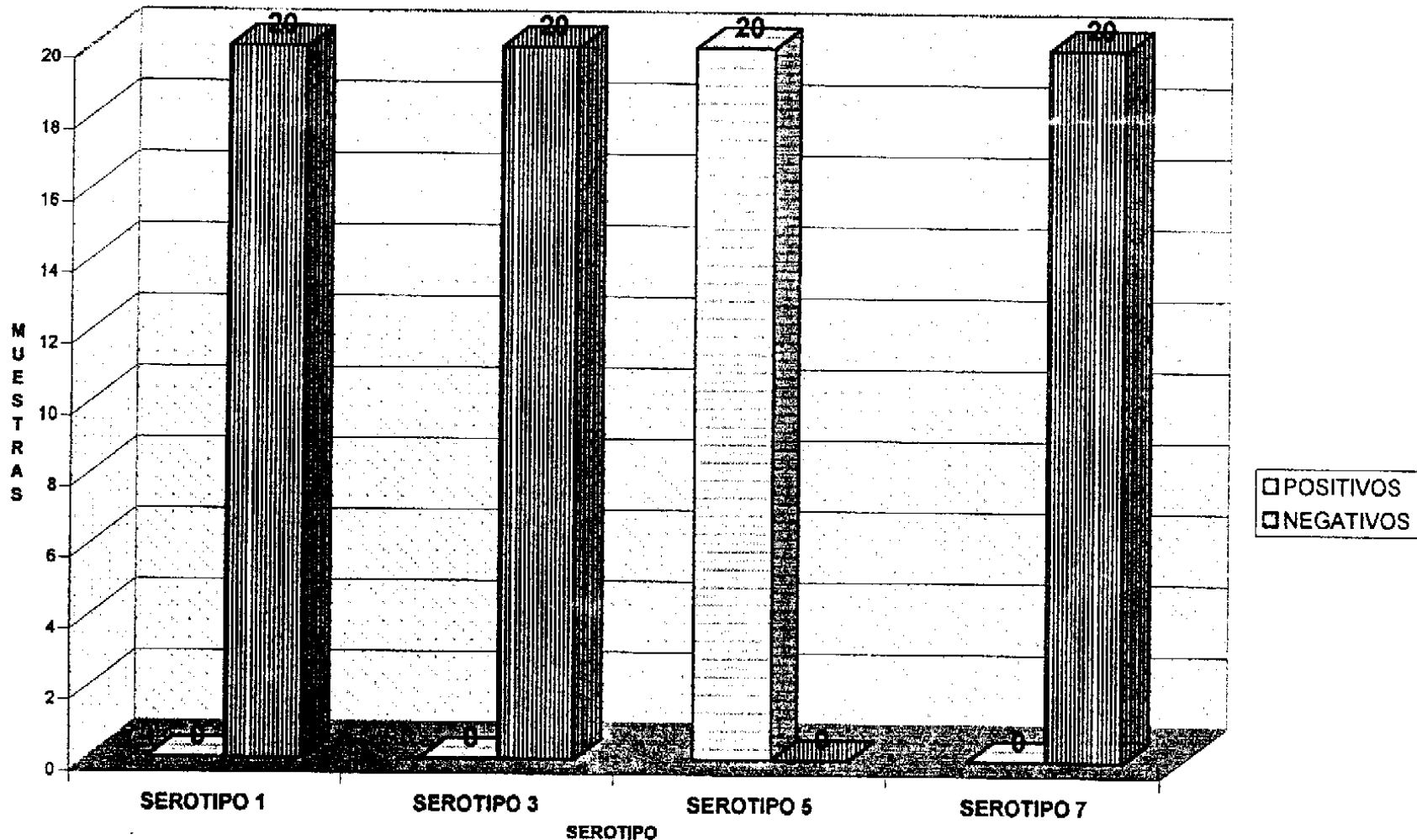
GRAFICA 8: DISTRIBUCION DE LOS RESULTADOS DE LA PRUEBA SEROLOGICA PLEUROTTEST* PARA DETECTAR LA PRESENCIA DE ANTICUERPOS CIRCULANTES CONTRA *Actinobacillus pleuropneumoniae* EN CERDOS DE 13 SEMANAS DE EDAD EN GRANJA 1 TECNIFICADA, GUATEMALA, FEBRERO-MARZO DE 1998.

LOTE 29



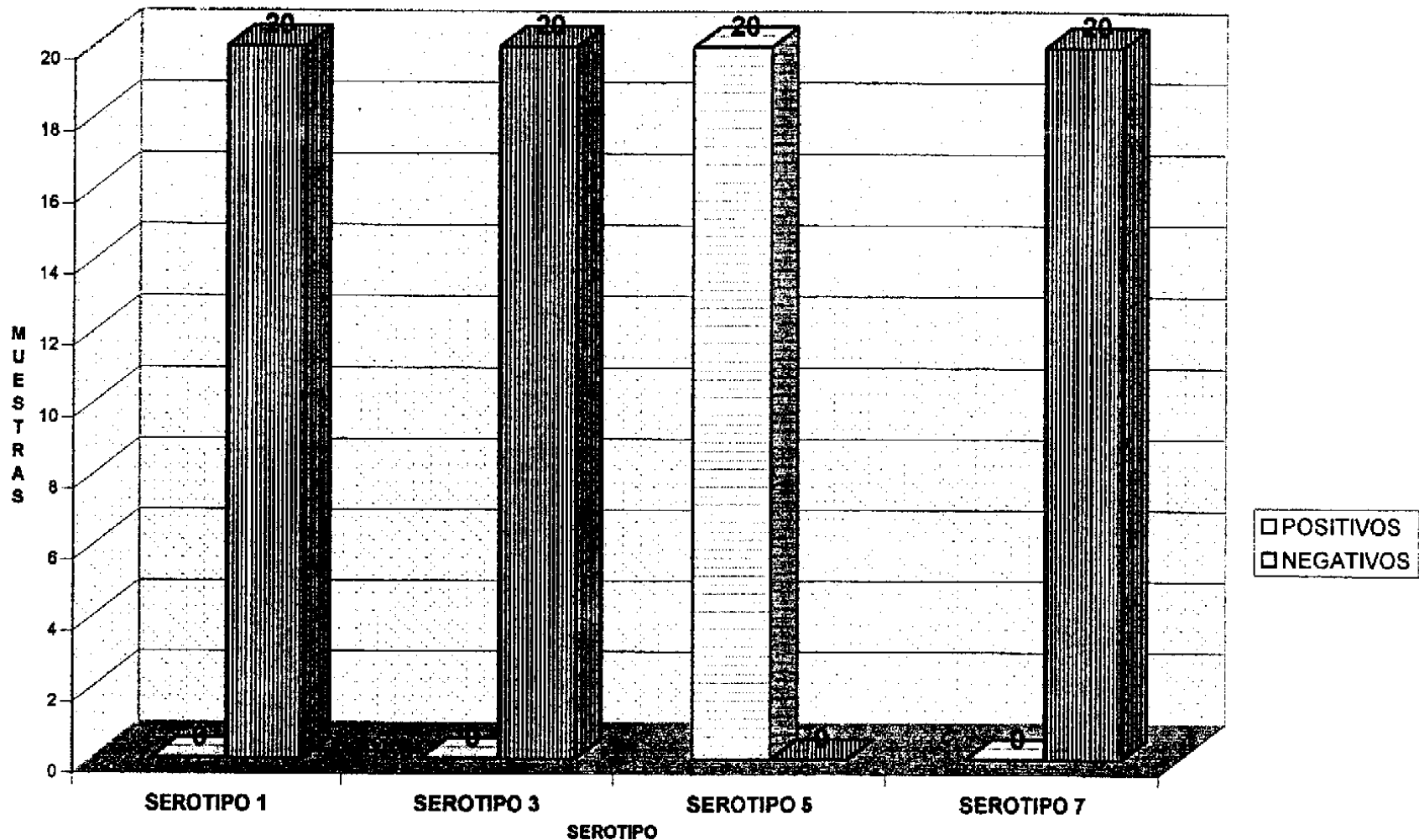
GRAFICA 9: DISTRIBUCION DE LOS RESULTADOS DE LA PRUEBA SEROLOGICA PLEUROTTEST* PARA DETECTAR LA PRESENCIA DE ANTICUERPOS CIRCULANTES CONTRA Actinobacillus pleuropneumoniae EN CERDOS DE 13 SEMANAS DE EDAD EN GRANJA 2 TECNIFICADA, GUATEMALA, FEBRERO-MARZO DE 1998.

LOTE 30



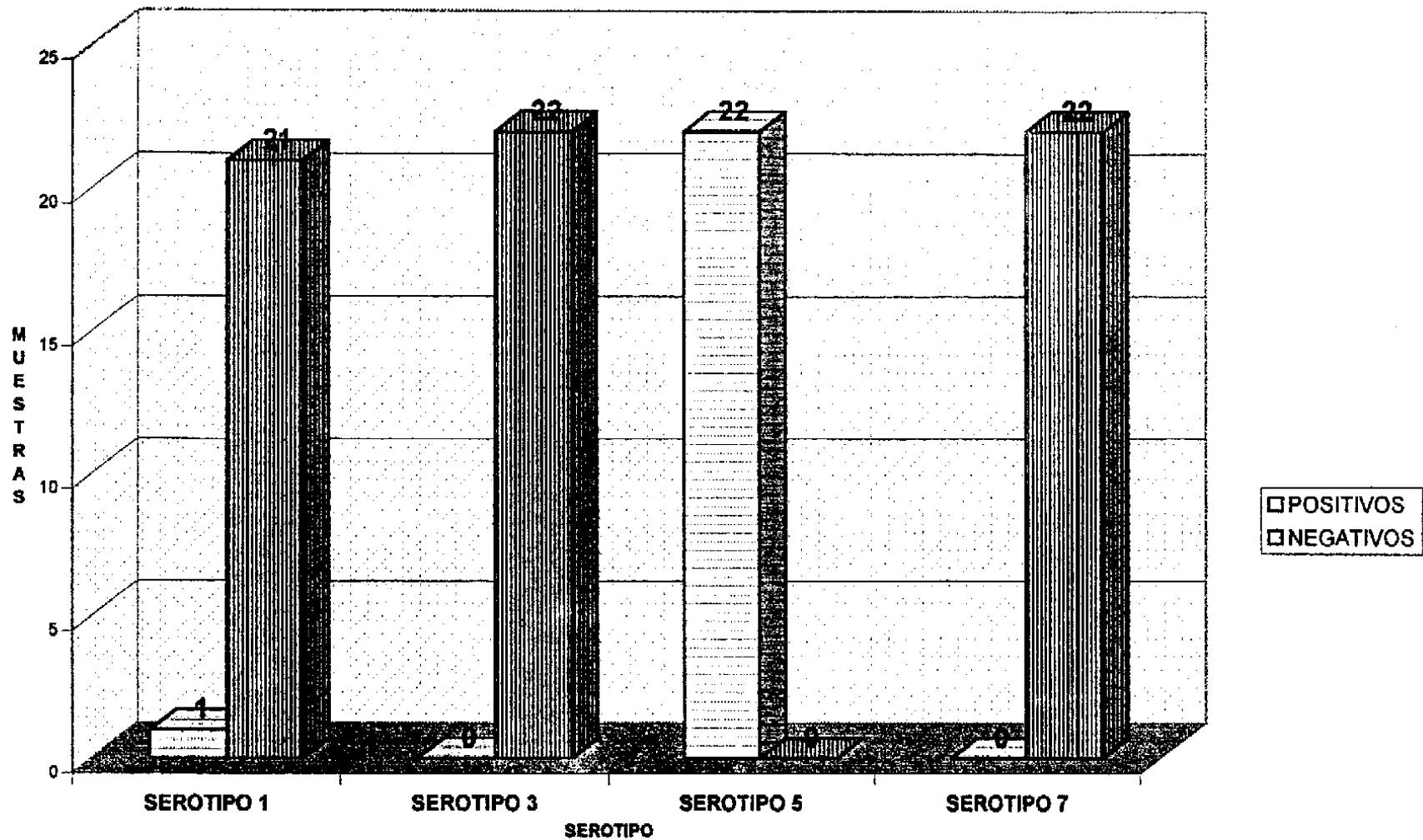
GRAFICA 10: DISTRIBUCION DE LOS RESULTADOS DE LA PRUEBA SEROLOGICA PLEUROTTEST* PARA DETECTAR LA PRESENCIA DE ANTICUERPOS CIRCULANTES CONTRA Actinobacillus pleuropneumoniae EN CERDOS DE 12 SEMANAS DE EDAD EN GRANJA 2 TECNIFICADA, GUATEMALA, FEBRERO-MARZO DE 1998.

LOTE 31



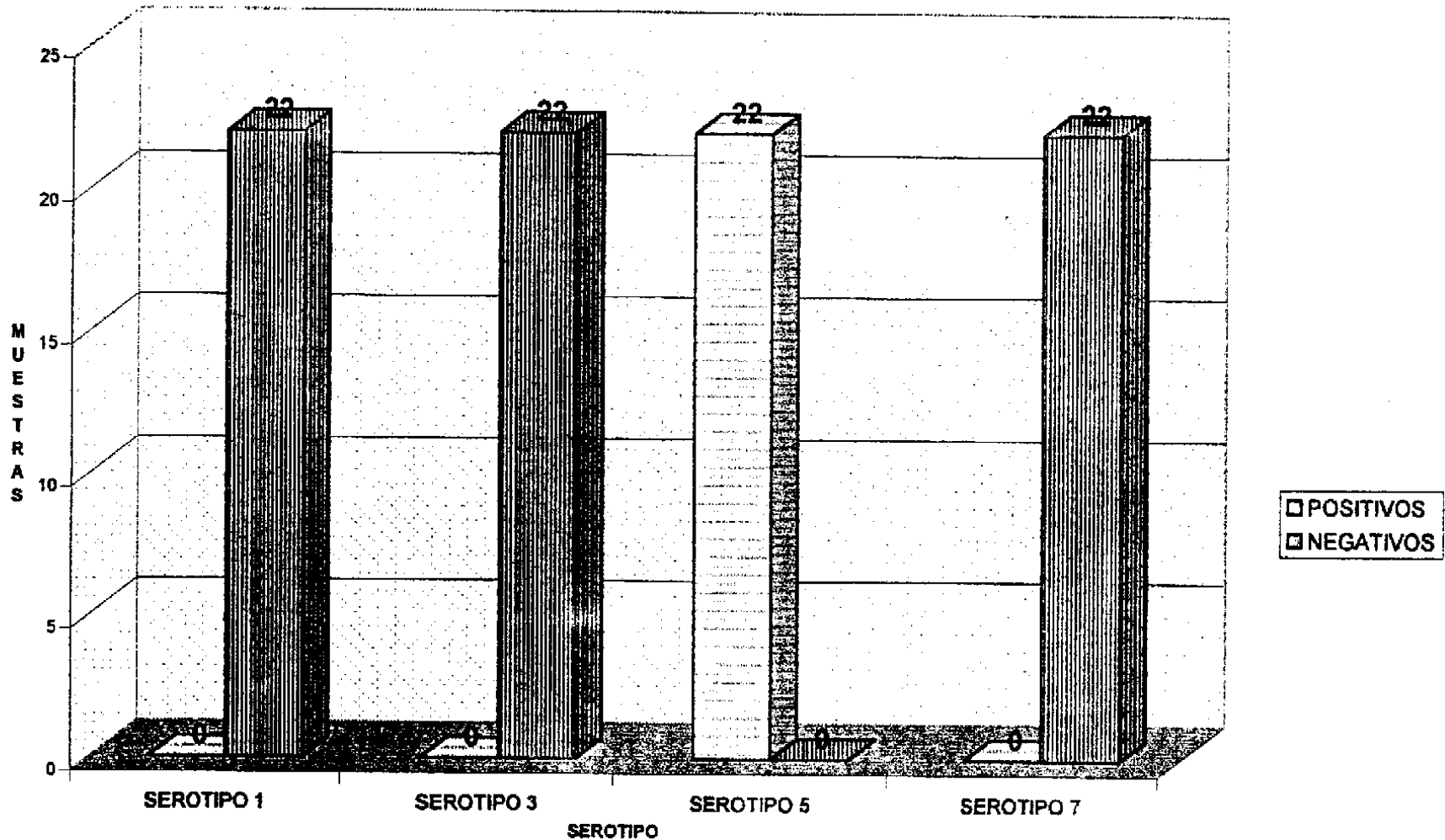
GRAFICA 11: DISTRIBUCION DE LOS RESULTADOS DE LA PRUEBA SEROLOGICA PLEUROTTEST* PARA DETECTAR LA PRESENCIA DE ANTICUERPOS CIRCULANTES CONTRA Actinobacillus pleuropneumoniae EN CERDOS DE 12 SEMANAS DE EDAD EN GRANJA 2 TECNIFICADA, GUATEMALA, FEBRERO-MARZO DE 1998.

LOTE 32



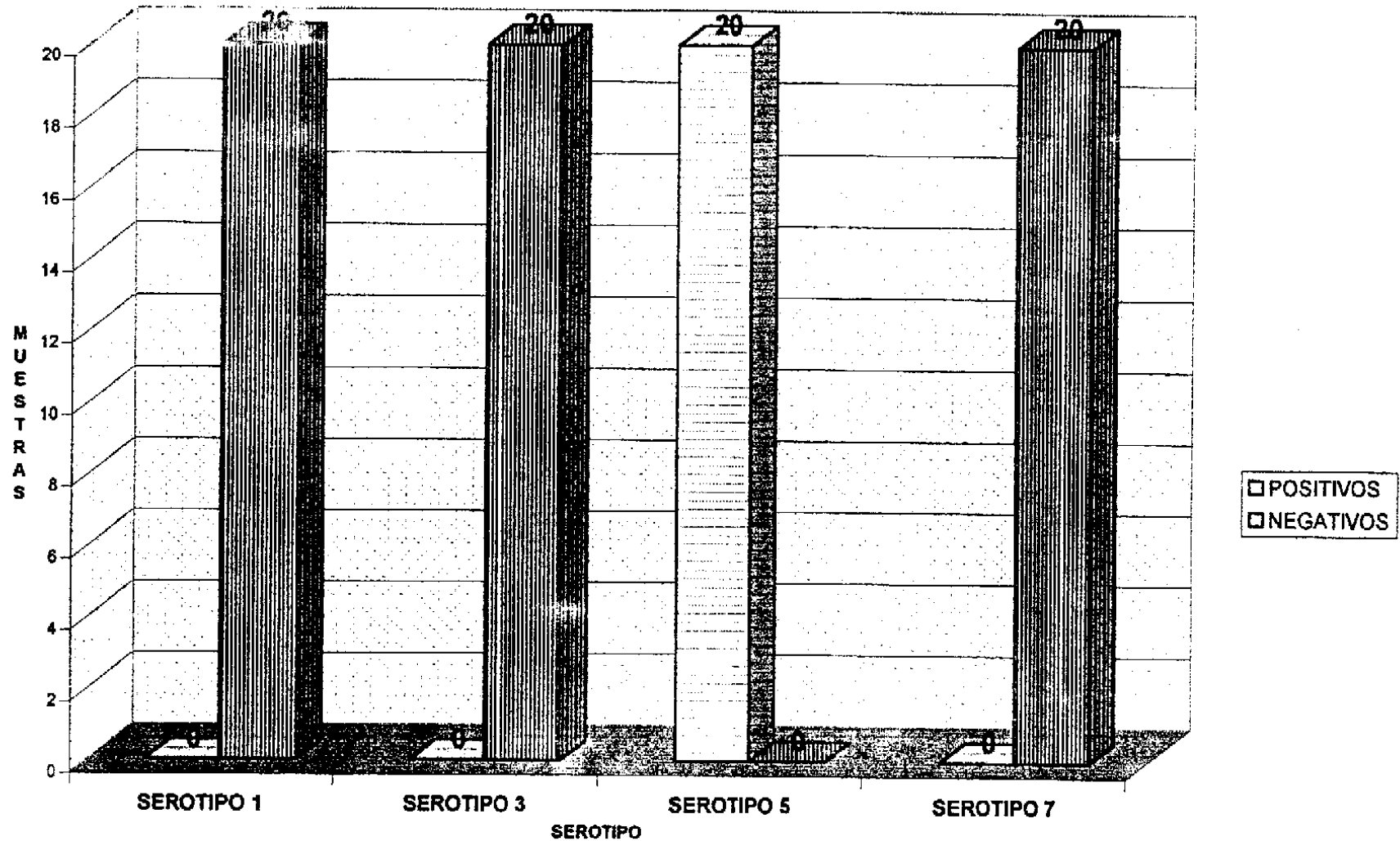
GRAFICA 12: DISTRIBUCION DE LOS RESULTADOS DE LA PRUEBA SEROLOGICA PLEUROTTEST* PARA DETECTAR LA PRESENCIA DE ANTICUERPOS CIRCULANTES CONTRA *Actinobacillus pleuropneumoniae* EN CERDOS DE 11 SEMANAS DE EDAD EN GRANJA 2 TECNIFICADA. GUATEMALA, FEBRERO-MARZO DE 1998.

LOTE 33



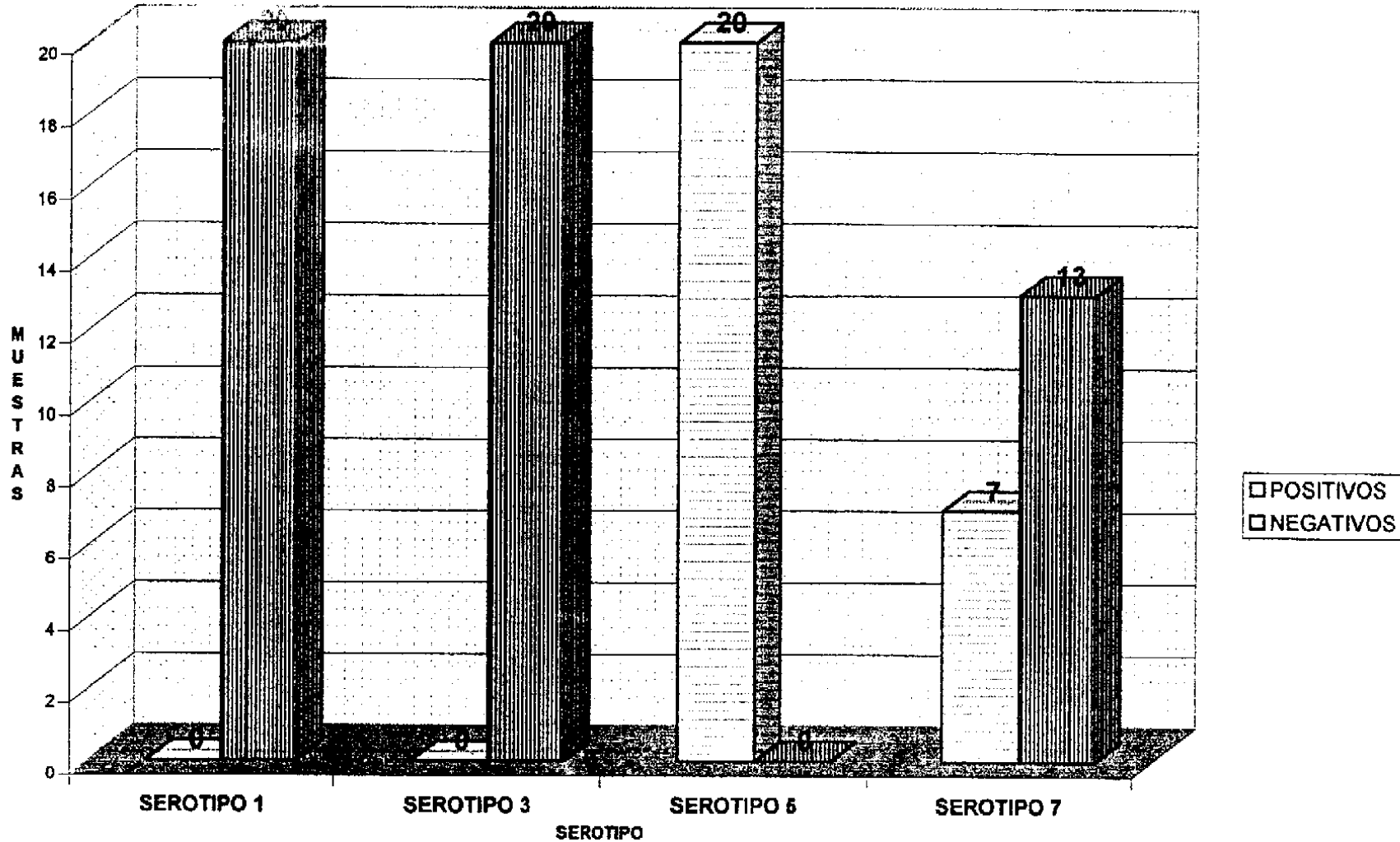
GRAFICA 13: DISTRIBUCION DE LOS RESULTADOS DE LA PRUEBA SEROLOGICA PLEUROTTEST* PARA DETECTAR LA PRESENCIA DE ANTICUERPOS CIRCULANTES CONTRA *Actinobacillus pleuropneumoniae* EN CERDOS DE 11 SEMANAS DE EDAD EN GRANJA 2 TECNIFICADA. GUATEMALA, FEBRERO-MARZO DE 1998.

LOTE 33 A



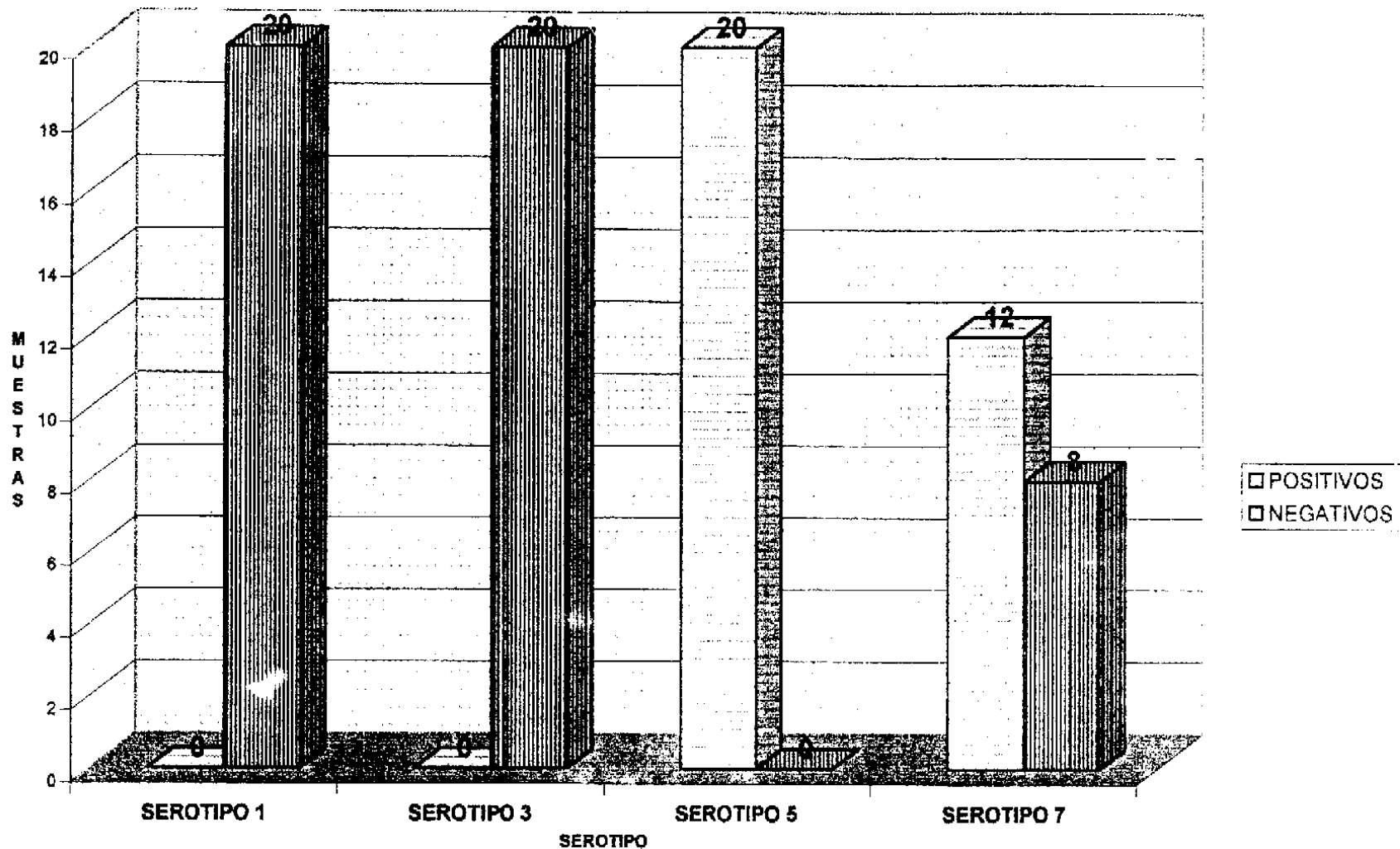
GRAFICA 14: DISTRIBUCION DE LOS RESULTADOS DE LA PRUEBA SEROLOGICA PLEUROTTEST* PARA DETECTAR LA PRESENCIA DE ANTICUERPOS CIRCULANTES CONTRA Actinobacillus pleuropneumoniae EN CERDOS DE 10 SEMANAS DE EDAD EN GRANJA 2 TECNIFICADA. GUATEMALA, FEBRERO-MARZO DE 1998.

LOTE 34



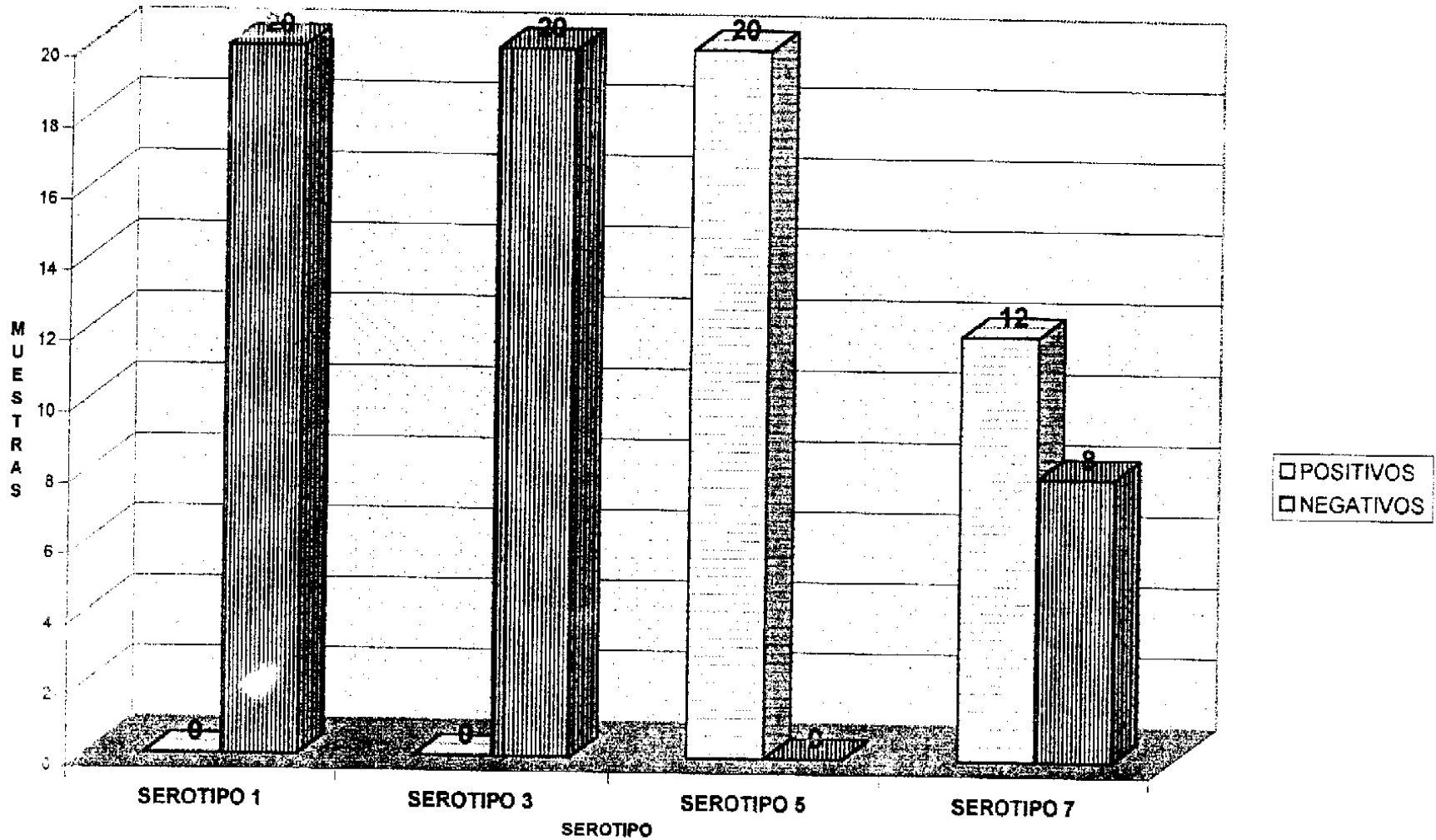
GRAFICA 15: DISTRIBUCION DE LOS RESULTADOS DE LA PRUEBA SEROLOGICA PLEUROTTEST* PARA DETECTAR LA PRESENCIA DE ANTICUERPOS CIRCULANTES CONTRA *Actinobacillus pleuropneumoniae* EN CERDOS DE 10 SEMANAS DE EDAD EN GRANJA 2 TECNIFICADA. GUATEMALA, FEBRERO-MARZO DE 1998.

LOTE 35



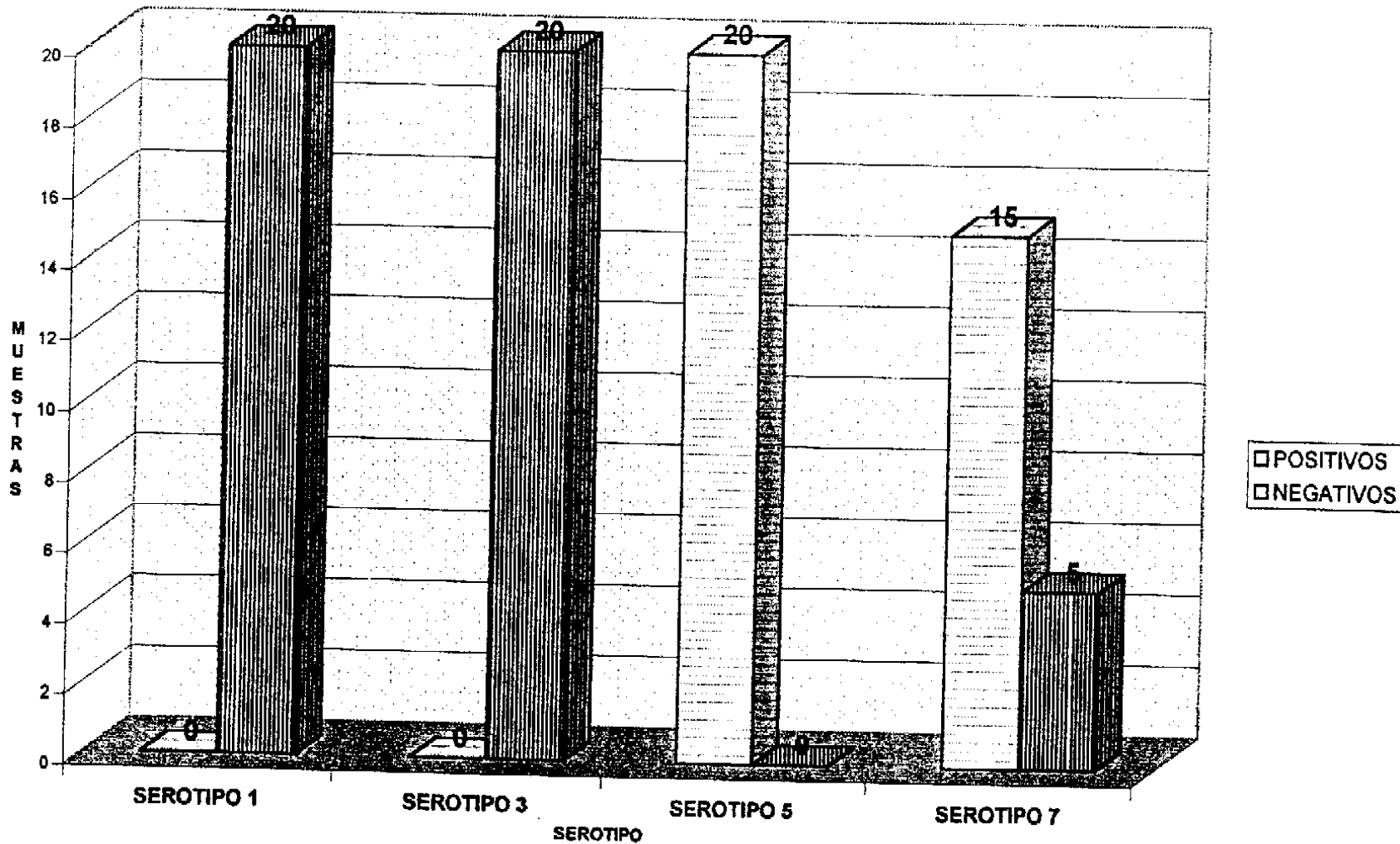
GRAFICA 16: DISTRIBUCION DE LOS RESULTADOS DE LA PRUEBA SEROLOGICA PLEUROTTEST* PARA DETECTAR LA PRESENCIA DE ANTICUERPOS CIRCULANTES CONTRA *Actinobacillus pleuropneumoniae* EN CERDOS DE 9 SEMANAS DE EDAD EN GRANJA 2 TECNIFICADA. GUATEMALA, FEBRERO-MARZO DE 1998.

LOTE 36



GRAFICA 17: DISTRIBUCION DE LOS RESULTADOS DE LA PRUEBA SEROLOGICA PLEUROTTEST* PARA DETECTAR LA PRESENCIA DE ANTICUERPOS CIRCULANTES CONTRA Actinobacillus pleuropneumoniae EN CERDOS DE 9 SEMANAS DE EDAD EN GRANJA 2 TECNIFICADA. GUATEMALA, FEBRERO-MARZO DE 1998.

LOTE 37



GRAFICA 18: DISTRIBUCION DE LOS RESULTADOS DE LA PRUEBA SEROLOGICA PLEUROTTEST* PARA DETECTAR LA PRESENCIA DE ANTICUERPOS CIRCULANTES CONTRA Actinobacillus pleuropneumoniae EN CERDOS DE 8 SEMANAS DE EDAD EN GRANJA 2 TECNIFICADA. GUATEMALA, FEBRERO-MARZO DE 1998.

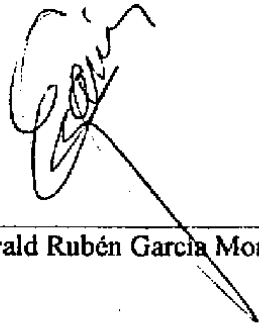
APENDICE

FORMULAS ANTIGENICAS DE Actinobacillus pleuropneumoniae

Actinobacillus pleuropneumoniae	Serotipo Capsular	Serotipo Somático
SEROTIPO 1	K:1	O:1
SEROTIPO 2	K:2	O:2
SEROTIPO 3	K:3	O:3
SEROTIPO 4	K:4	O:4
SEROTIPO 5, a, b.	K:5, a, b.	O:5
SEROTIPO 6	K:6	O:3
SEROTIPO 7	K:7	O:4
SEROTIPO 8	K:8	O:3
SEROTIPO 9	K:9	O:1
SEROTIPO 10	K:10	O:6
SEROTIPO 11	K:11	O:7
SEROTIPO 12	K:12	O:8

CITOLISINAS DE Actinobacillus pleuropneumoniae

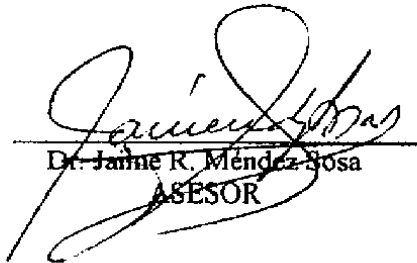
Actinobacillus pleuropneumoniae	CITOLISINA Apx I	CITOLISINA Apx II	CITOLISINA Apx III
SEROTIPO 1	+	+	-
SEROTIPO 2	-	+	+
SEROTIPO 3	-	+	+
SEROTIPO 4	-	+	+
SEROTIPO 5, a, b.	+	+	-
SEROTIPO 6	-	+	+
SEROTIPO 7	+	+	-
SEROTIPO 8	-	+	+
SEROTIPO 9	+	+	-
SEROTIPO 10	+	-	-
SEROTIPO 11	+	+	-
SEROTIPO 12	-	+	+



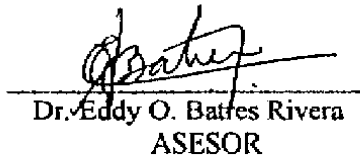
P. Agr. Ewald Rubén García Montero



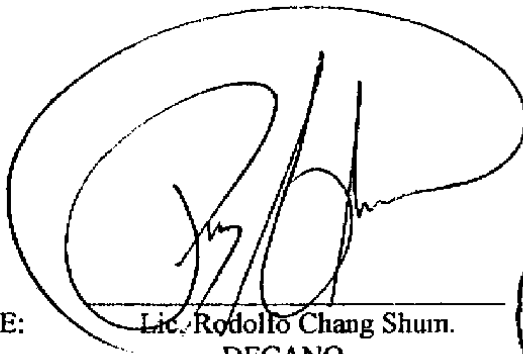
Dr. Carlos E. del Aguila Bernasconi
ASESOR PRINCIPAL



Dr. Jaime R. Méndez Sosa
ASESOR



Dr. Eddy O. Batres Rivera
ASESOR



IMPRIMASE:

Lic. Rodolfo Chang Shum.
DECANO

