

BORDETELLA BRONCHISEPTICA: SU RELACIÓN CON LA RINITIS ATRÓFICA PORCINA

JUAN ANTONIO MONTARAZ CRESPO

*Depto. de Virología e Inmunología
Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia
Universidad Nacional Autónoma de México
C. Universitaria, 04510, México, D. F.*

I. Introducción.....	203
II. Etiología de la rinitis atrófica.....	204
1. <i>Bordetella bronchiseptica</i>	204
2. <i>Pasteurella multocida</i>	205
3. Sinergismo entre <i>B. bronchiseptica</i> y <i>P. multocida</i>	206
4. Otros microorganismos.....	206
III. Patogenia de la rinitis atrófica.....	207
1. Afinidad y efecto de <i>B. bronchiseptica</i> por el epitelio ciliar del tracto respiratorio.....	207
2. Toxinas y otros factores de virulencia de <i>B. brcmchiseptica</i>	208
3. Diferencias en virulencia entre cepas de <i>B. bronchiseptica</i>	210
IV. Prevención de la rinitis atrófica mediante inmunización con <i>B. bronchiseptica</i>	211
V. Conclusiones y comentarios finales.....	215
Referencias.....	217

I. Introducción

La Rinitis Atrófica Porcina (RA) es una enfermedad respiratoria crónica que se caracteriza por rinitis y atrofia de los cornetes nasales, lo que generalmente puede provocar deformaciones de las estructuras óseas de la jeta. Sin duda

una de las razones que han hecho que esta enfermedad, de distribución mundial, haya recibido considerable atención, es su impacto negativo sobre la ganancia diaria de peso en los animales afectados (1, 2, 3, 4, 5). Sin embargo, este es uno de los aspectos de la enfermedad en donde existe controversia ya que varios autores no han encontrado correlación entre la presencia y /o severidad de la enfermedad y la ganancia de peso (6, 7, 8,9).

Otro aspecto controvertible de esta enfermedad es su etiología ya que hay dos microorganismos involucrados en la mayoría de los estudios al respecto: *Bordetella bronchiseptica* y *Pasteurella multocida*. Hoy en día un número creciente de investigadores parece apoyar la tesis que sugiere que es *P. multocida*, serotipo D y productora de toxina dermonecrótica, el agente etiológico más importante. Uno de los objetivos de este trabajo es revisar críticamente este aspecto y presentar evidencia experimental que impide descartar a *B. bronchiseptica* como factor etiológico de la RA. Así mismo, se revisarán estudios recientes con relación a propiedades y factores de virulencia de esta bacteria que pudieran participar en la patogenia de la enfermedad. Finalmente se abordará el aspecto de inmunización y el estado actual de nuestro conocimiento en cuanto a antígenos de *B. brmchiseptica* importantes en la inducción de protección inmune.

II. Etiología de la rinitis atrófica

1. *Bordetella bronchiseptica*

El primero en asociar a este microorganismo con la enfermedad fue Switzer en 1956 quien reprodujo la enfermedad inoculando *B. bronchiseptica* aislada de un caso clínico de RA (10). Esta primera observación ha sido corroborada infectando en forma experimental ya sea cerdos convencionales (11, 12, 13, 14), libres de patógenos específicos (15) o gnotobióticos (5, 16, 17, 18, 19, 20, 21).

Por otro lado, *B. bronchiseptica* ha sido aislada a partir de cerdos con manifestaciones clínicas de la enfermedad en varios países, incluyendo Estados Unidos (22, 23, 24), Japón (25), Dinamarca (26), Inglaterra (27) y Holanda (28). En

nuestro país la enfermedad ha sido identificada a nivel de rastro (29) y *B. bronchiseptica* se ha aislado en casos clínicos de RA (30). Una tercera línea de evidencia que apoya la asociación de *B. bronchiseptica* con RA es la de estudios en los que se previene la enfermedad vacunando con este microorganismo. Estos trabajos serán discutidos más adelante.

Es justo mencionar que algunos autores que han estudiado la enfermedad, ya sea reproducida experimental o naturalmente, han observado que cuando *B. bronchiseptica* es el único agente etiológico involucrado, la lesión en los cornetes nasales es leve y tiende a regenerar espontáneamente (31, 32, 33). Estos resultados sin duda sugieren que otros factores están involucrados en la etiología (concretamente *P. multocida*) pero no son suficientes para descartar a *B. bronchiseptica*, sobre todo cuando se consideran algunas de las propiedades de esta bacteria, discutidas en la sección correspondiente a patogenia de la enfermedad.

2. *Pasteurella multocida*

La asociación de este microorganismo con la RA fue descrita originalmente por Switzer (10), en un estudio en donde se reprodujo la enfermedad inoculando cerdos con *P. multocida* (pero también con *B. bronchiseptica* estableciendo desde entonces la posibilidad de etiología múltiple). Esta observación ha sido corroborada por otros autores, quienes han reproducido la enfermedad inoculando exclusivamente *P. multocida* (31, 34, 35). Así mismo se ha demostrado la correlación entre la presencia de la enfermedad y el aislamiento de *P. multocida* pero no *B. bronchiseptica* (36). Sin duda el hallazgo más interesante en este sentido es el de Jong, et al. (37) quienes observaron que sólo cepas de *P. multocida* serotipo D productoras de toxina dermonecrótica eran capaces de producir la enfermedad en lechones inoculados experimentalmente ya sea con las bacterias o con un filtrado libre de ellas. Estas observaciones han sido repetidas en estudios en donde la RA se ha reproducido inoculando la toxina por vía intraperitoneal (38) o intramuscular (39).

3. Sinergismo entre *B. bronchiseptica* y *P. multocida*

Independientemente de lo mencionado hasta este momento, existen estudios que indican un sinergismo entre *P. multocida* y *B. bronchiseptica* en la etiología de la RA. Harris y Switzer en 1968 (40) observaron que lechones inoculados a los tres días de edad con *P. multocida* serotipo D, desarrollaban solo leves lesiones microscópicas en los cornetes y la bacteria era eliminada rápidamente. Sin embargo, si la infección era precedida por inoculación con *B. bronchiseptica*, *P. multocida* se establecía y permanecía en la mucosa nasal. Estos autores concluyeron que *P. multocida* por si sola era incapaz de colonizar la cavidad nasal del cerdo.

A partir de entonces han aparecido estudios con resultados contradictorios. Por ejemplo, Nielsen (31) reprodujo la enfermedad inoculando *P. multocida* sola o en combinación con *B. bronchiseptica*. Otros autores han observado que la enfermedad en su forma clínica sólo se reproduce inoculando *P. multocida* (productora de toxina dermonecrótica) precedida 5 días antes por la inoculación de *B. bronchiseptica* (33). Resultados similares han sido observados por Pedersen y Elling (41) quienes incluso en uno de sus trabajos sugieren que la infección con *B. bronchiseptica* deprime la resistencia de la mucosa nasal y facilita el establecimiento de cepas *P. multocida* productoras de toxina presentándose entonces las manifestaciones clínicas de la RA.

4. Otros microorganismos

La posibilidad de que otros microorganismos estén involucrados en la etiología de RA ha sido estudiada. Edington y colaboradores (18) inocularon cerdos gnotobióticos con Citomegalovirus y observaron que éste solo producía lesiones a nivel de la mucosa nasal. Cuando se inocularon el virus y *B. bronchiseptica* en combinación, las lesiones sobre los cornetes nasales no fueron mayores que las producidas por la bacteria sola.

Por otra parte, *Mycoplasma hyorhinis* ha sido aislado de la cavidad nasal de cerdos con RA aunque la inoculación experimental con este microorganismo (30) o con *Mycoplasma flocculare* (31) no reproduce la enfermedad.

III. Patogenia de la rinitis atrófica

En esta sección se consideran algunos estudios que describen propiedades de *B. bronchiseptica* relevantes en la patogenia de la RA.

1. Afinidad y efecto de *B. bronchiseptica* por el epitelio ciliar del tracto respiratorio

Un primer aspecto a considerar es la marcada afinidad de *B. bronchiseptica* por el epitelio ciliado del tracto respiratorio. Duncan y Ramsey, observaron que en lechones de 5 días de edad inoculados intranasalmente con *B. bronchiseptica* la lesión principal, 2 semanas después, era la pérdida de cilios en el epitelio nasal (42). Este mismo grupo en un experimento similar y utilizando un antisuero fluorescente encontro *B. bronchiseptica* solo entre los cilios de la mucosa nasal y traqueal; pero no en tejidos subyacentes (43). Estas observaciones fueron corroboradas por Maeda y Shimizu inoculando cerdos libres de patógenos específicos (44). Otro grupo japonés extendió estas observaciones en estudios *in vitro* los que revelaron que sólo cepas virulentas de *B. bronchiseptica* se adhieren a células epiteliales de la mucosa nasal del cerdo mientras que cepas avirulentas lo hacían en forma débil (45). En este mismo trabajo se corroboró la marcada pérdida de cilios en lechones experimentalmente infectados con *B. bronchiseptica*.

Cabe mencionar que la afinidad de *B. bronchiseptica* por el epitelio nasal ha sido también observada en otras especies animales como conejo (46) y perro (47) y es compartida por *Bordetella pertussis*, agente etiológico de la tosferina, la cual coloniza el epitelio ciliado del tracto respiratorio del humano (48). Un grupo que ha profundizado en este aspecto es el de Bemis y colaboradores (49, 50, 51). En uno de sus trabajos estudiando la infección experimental por aerosol en el perro se encontró que *B. bronchiseptica* persistía en la mucosa traqueal hasta 14 semanas post-infección, mientras que la infección con gérmenes normalmente presentes en el tracto respiratorio (*P. multocida*, *Staphilococcus aureus*, *Pseudomona aeruginosa*) se eliminaba en un lapso de tres días (49). En estudios *in vitro* empleando explantes traqueales se observó que cultivos virulentos de *B. bronchiseptica*

reducían significativamente el movimiento ciliar en un lapso de 5 minutos post-infección, mientras que cepas avirulentas o virulentas muertas con formalina no producían ciliostasis (50). En un estudio comparativo de varias cepas de *B. bronchiseptica* la única característica morfológica que correlacionó con la capacidad de producir ciliostasis fue la presencia de pili (51).

2. Toxinas y otros factores de virulencia de *B. bronchiseptica*

En 1939 Evans y Maitland (52) publicaron la primera descripción detallada de una toxina intracelular de *B. bronchiseptica*. Esta toxina preparada por medio de ciclos sucesivos de congelación y descongelación producía la muerte de cuyes inoculados endovenosamente o necrosis de la dermis cuando se aplicaba localmente a conejos; la toxina se inactivaba por calentamiento a 56° C. Posteriormente Nakase (53) observó que sólo las cepas virulentas del microorganismo producían la toxina, mientras que las cepas avirulentas eran poco tóxicas.

Hanada et al. (54), reprodujeron la RA inoculando intranasalmente cerdos con un extracto de *B. bronchiseptica* preparado mediante la sonicación de las bacterias. Los autores sugieren que el factor responsable de las lesiones es la toxina termo-lábil aunque no se descartó la posibilidad de que otros factores como la endotoxina estuvieran involucrados. Más recientemente Collings y Rutter (2) observaron que algunas cepas aisladas de cerdos, colonizaban el aparato respiratorio de lechones gnotobióticos de manera más eficiente que las cepas aisladas de otras especies animales. Las dos cepas de origen suino producían RA y eran altamente tóxicas en términos de producción de toxina termo-lábil.

Harris y colaboradores (55, 56) prepararon un extracto conteniendo la endotoxina de *B. bronchiseptica* que alteraba algunos procesos respiratorios y la acumulación de calcio en mitocondrias. Este efecto era parecido al producido por un estado de hiperparatiroidismo el cual produce resorción ósea con lesiones similares a las observadas en los cornetes nasales de cerdos con RA.

Otro factor de virulencia de descripción reciente para el género *Bordetella* es la enzima adenil-ciclase la cual cataliza

la formación de monofosfato de adenosina cíclico (AMPc). Esta enzima se describió originalmente en cultivos de *B. pertussis* en donde se le adscribió un peso molecular de 70,000 d y la propiedad de ser termolábil (57). Posteriormente la enzima se encontró en cultivos de cepas virulentas de los tres miembros del género *B. pertussis*, *B. parapertussis* y *B. bronchiseptica*); pero no en cultivos de cepas avirulentas (58, 59). En el caso de *B. pertussis* existen estudios que asocian a la enzima con la virulencia de este microorganismo. Confer y Eaton (60) Demostraron que sobrenadantes del cultivo de *B. pertussis* contenían un factor que inducía una disminución en la producción de iones superóxido en macrófagos alveolares y neutrófilos y alteraba la capacidad bactericida de estos últimos en los que se observaba un incremento substancial en el contenido intracelular de AMPc. Por otro lado Weiss y colaboradores (61) observaron que en mutantes de *B. pertussis* que perdían la capacidad de producir adenil-ciclase y hemolisina, se disminuía severamente su virulencia para ratones lactantes. En el caso de *B. bronchiseptica* Montaraz y colaboradores (62) prepararon un anticuerpo monoclonal que confería inmunidad artificial pasiva a ratones desafiados subsecuentemente con un aerosol del microorganismo. Este anticuerpo reaccionaba con un antígeno proteico de 68.000 d de peso molecular presente en la membrana externa del microorganismo y que poseía actividad de adenil-ciclase (63) (la relevancia de este antígeno en relación con la inmunidad inducida en cerdos con bacterina preparada con *B. bronchiseptica* será discutida más adelante). Cabe señalar que existen estudios que indican una inhibición de la replicación celular en presencia de concentraciones elevadas de AMPc; como ejemplos se pueden citar los siguientes: Sheppard (64) reportó que las células transformadas, ya sea por acción viral o espontáneamente, retornaban a un estado de inhibición de la replicación por contacto cuando se adicionaba AMPc al medio de cultivo. Así mismo Otten y colaboradores (65) observaron que la replicación de fibroblastos disminuye a medida que los niveles endógenos de AMPc aumentaban. En el mismo estudio se encontró que la iniciación de la síntesis de ácido desoxirribonucleico es precedida por una disminución en los niveles de AMPc. Por otro lado,

Drezner et al. (66), estudiaron la participación de AMPc en la regulación de la síntesis de macromoléculas en tejido cartilaginoso de embriones de pollo *in vitro*. Incubación en presencia de 0.5 mM de AMPc resultaba en inhibición de la incorporación de leucina y uridina en proteína y ácido Ribonucleico respectivamente. Este tipo de resultados apoyarían la hipótesis que sugeriría que un incremento en la concentración de AMPc inducido por la adenil-ciclase de *B. bronchiseptica* sería un factor desencadenante en el proceso de atrofia del cornete nasal. Finalmente, es interesante recordar que la enzima adenil-ciclase ha sido descrita como factor de virulencia en otros microorganismos como *Bacillus anthracis*; uno de los componentes de la toxina de este germen, el denominado factor productor de edema, tiene actividad de adenil-ciclase (67).

3. Diferencias en virulencia entre cepas de *B. bronchiseptica*

Este es un aspecto que ha recibido cierta atención en los últimos años y que sin duda debe tomarse en cuenta, cuando se considere a este microorganismo como agente causal de la RA.

Skelley y colaboradores (15) probaron diferentes cepas de *B. bronchiseptica* aisladas de granjas con RA en su capacidad de reproducir experimentalmente la enfermedad. Sólo un número de estas cepas produjo la enfermedad, aunque todas las cepas probadas colonizaban el tracto respiratorio del cerdo. Aunque Rutter et al. en un primer estudio (68) no encontraron diferencias en virulencia entre cepas aisladas a partir de cerdos con y sin RA clínica, en un segundo estudio estos autores notaron que sí existían diferencias por lo menos en una de las cepas previamente probadas (69).

Miniats y Johnson (20) encontraron diferencias en virulencia, manifestadas por la capacidad de reproducir la enfermedad en cerdos gnotobióticos; además observaron que estas diferencias eran indistinguibles cuando se utilizaban criterios bioquímicos o serológicos convencionales. En este sentido cabe señalar que Pedersen (70) no encontró diferencias en los antígenos somáticos o capsulares de 80 cepas de *B. bronchiseptica* de origen porcino, aunque en este caso

no se hicieron estudios para determinar la virulencia de las cepas. Considerando lo anterior parece particularmente relevante el hallazgo de Novotny y colaboradores (63) quienes encontraron que dos cepas de *B. bronchiseptica* incapaces de producir RA (pero que colonizan el tracto respiratorio) carecían de un antígeno de la membrana externa del germen con actividad de adenil-ciclase e identificado con un anticuerpo monoclonal específico para este antígeno (62).

IV. Prevención de la rinitis atrófica mediante inmunización con *B. bronchiseptica*

La inmunización de la cerda gestante y/o del lechón ha sido sin duda la medida que más atención ha recibido en los últimos años tendientes a controlar la RA. Otras prácticas utilizadas en mayor o menor escala y que no son consideradas en esta revisión son la quimioterapia (71, 72, 73, 74), la eliminación de cerdos del pie de cría portadores de *B. bronchiseptica* (75) y el mejoramiento en las prácticas de manejo (76, 77).

Los primeros en demostrar un efecto protector a través de vacunación fueron Harris y Switzer (78) quienes inmunizaron cerdos por vía intranasal con una cepa virulenta de *B. bronchiseptica* sensible a sulfonamida; después de eliminar la cepa vacunal administrando sulfonamida en el alimento, los animales quedaron inmunes a subsecuentes reinfecciones con el microorganismo. En un estudio posterior los mismos autores inmunizaron cerdos subsecuentemente con *B. bronchiseptica* desintegrada por sonicación y desafiaron por vía intranasal notando una eliminación acelerada de la infección en los animales vacunados (79). A partir de estos primeros estudios y en virtud de que una marcada atrofia de los cornetes nasales sólo se presenta cuando los lechones son infectados con *B. bronchiseptica* en los primeros días de vida (11, 12), la mayor parte de los estudios posteriores se concentraron en la inmunización de la cerda gestante y /o de sus lechones (para mayores detalles con relación a dosificación y cepas vacunales se sugiere la revisión de Giles y Smith) (80). Koshumizu y colaboradores (8) inmunizaron cerdas gestantes 4 y 6 semanas antes del parto con una cepa

patógena muerta con timerosal; los lechones que tomaron el calostro inmune fueron refractarios al establecimiento nasal de *B. bronchiseptica* a los 7 días de nacidos. Kemeny (82) inmunizó cerdas primerizas a los 70 y 85 días de gestación con una bacterina incorporada en adyuvante completo de Freund; ocho de diez lechones que no tomaron calostro desarrollaron atrofia de los cornetes después de la infección intranasal con *B. bronchiseptica* a diferencia del grupo de 5 lechones que tomaron el calostro inmune en el que sólo 2 desarrollaron la enfermedad. La eficacia de una bacterina comercial fue evaluada por Goodnow y colaboradores (83, 84) en dos piaras afectadas con RA. La inmunización de la cerda, 4 y 2 semanas antes del parto, y de los lechones a los 7 y 28 días de edad, redujo la incidencia de la enfermedad hasta en un 90 % y hasta en 3 semanas el tiempo de finalización. En un estudio en donde lechones de 1 ó 2 días de edad fueron inmunizados intranasalmente con una cepa avirulenta de *B. bronchiseptica* y desafiados 3 semanas después, se redujo la incidencia de atrofia de los cornetes así como el nivel de infección con la cepa de desafío (85).

Daniel y colaboradores (86) investigaron una estrategia diferente en la que las cerdas eran inmunizadas por vía oral incorporando en la dieta una cepa de *B. bronchiseptica* inactivada, mientras que los lechones eran inmunizados por vía oral con una cepa avirulenta. Este protocolo se comparó en un estudio de campo con otro en el que tanto las cerdas como los lechones eran inmunizados con una vacuna inyectable, encontrándose que en este último caso el porcentaje de animales con RA severa era más alto. Smith y colaboradores (32) compararon dos regímenes de inmunización. En un caso (grupo A) las cerdas fueron vacunadas intranasalmente con una cepa viva de *B. bronchiseptica*, alimentadas periódicamente con este germen muerto e inoculadas parenteralmente con una bacterina 8, 6 y 2 semanas antes del parto; otro grupo (grupo B) fue inmunizado exclusivamente en forma parenteral. De los lechones nacidos, un grupo fue infectado intranasalmente en las primeras 24 horas de vida. Aunque la intensidad de la infección nasal con *B. bronchiseptica* fue similar independientemente del estatus inmune de las madres, la hipoplasia de los cornetes nasales fue significativamente

menor en lechones del grupo A. Un segundo grupo de lechones fueron inmunizados alas 7 y 28 días de edad e infectados por contacto directo con animales previamente inoculados. En este caso la progenie del grupo A no presentó lesiones en los cornetes mientras que lechones del grupo B o controles desarrollaron la hipoplasia típica; no se observaron diferencias entre lechones inmunizados o no; sin embargo, cuando los animales alcanzaron 70 kg de peso las lesiones en los cornetes habían desaparecido permaneciendo solo en animales no inmunizados y nacidos de cerdas no inmunes.

En algunos estudios se ha examinado el efecto de la inmunización con *B. bronchiseptica* en animales posteriormente desafiados con este microorganismo y *P. multocida*. De Jong y Rondhuis (87) vacunaron cerdos por vía intranasal con una cepa de *B. bronchiseptica* no patógena reduciéndose substancialmente las lesiones producidas por una infección experimental con *B. bronchiseptica* o *P. multocida*. Cuando esta vacuna se probó en un estudio de campo, se redujo la presentación de RA severa y la colonización del tracto respiratorio por *B. bronchiseptica*, aunque el efecto sobre la colonización por *P. multocida* fue ligero. En contraste con estos resultados, Barford y Pedersen (88) vacunaron cerdas primerizas con una bacteria comercial de *B. bronchiseptica*. Los lechones paridos fueron inoculados en los primeros 4 días de vida con *B. bronchiseptica* y una y tres semanas más tarde con *P. multocida* toxigénica. Al destete, lechones nacidos de cerdas no inmunizadas e inoculadas con *B. bronchiseptica* solamente, presentaban atrofia pronunciada de los cornetes. Sin embargo, después de la inoculación con ambos microorganismos se produjo atrofia severa tanto en lechones de cerdas inmunes como de cerdas no inmunes.

Cabe mencionar que la posibilidad de prevenir la enfermedad con inmunógenos que contengan *B. bronchiseptica* y *P. multocida* ha sido también estudiada. Sharpee y colaboradores (89) inmunizaron cerdas gestantes y sus lechones en la primera y tercera semanas de vida. Los lechones fueron desafiados con *B. bronchiseptica* 3 días después de la segunda inmunización consiguiéndose una reducción substancial en el número de animales que presentaron RA, en relación con controles no inmunizados. En un estudio similar Boar y co-

laboradores (90) previnieron la infección con *B. bronchiseptica* y *P. multocida* y la presentación de RA se redujo en cerdos inmunizados con ambos gérmenes. En un estudio de campo sólo se observaron casos esporádicos de la enfermedad después de la vacunación en cerdos al destete o en engorda; la infección por *B. bronchiseptica* fue completamente erradicada y la incidencia de RA asociada con *P. multocida* se redujo drásticamente.

Con relación a la inmunización con *P. multocida* es interesante el trabajo de Jong y colaboradores (91) quienes redujeron la incidencia de RA en una piara inmunizando a las cerdas gestantes con un filtrado libre de bacterias que contenía la toxina dermonecrótica de este microorganismo, emulsionada en aceite.

Juzgando por los resultados descritos hasta ahora puede concluirse que la inmunización es una práctica que ayuda a controlar el problema de RA en las explotaciones porcinas. Sin embargo, existen reportes en donde la vacunación no tiene un impacto positivo en la prevalencia de la enfermedad (8, 92). En este sentido son interesantes los resultados de Novotny y colaboradores (93). En este trabajo se hizo un análisis serológico de la inmunidad inducida por diferentes bacterinas preparadas con *B. bronchiseptica*. Las bacterinas se aplicaron a cerdas gestantes 7 y 2 semanas antes de término; los lechones se infectaron por vía intranasal con *B. bronchiseptica* durante los primeros 5 días de vida y se sangraron semanalmente hasta la novena semana de vida. De las 7 bacterinas probadas sólo dos previnieron la atrofia nasal en los lechones. El suero de los lechones inmunes se comparó con el de lechones que desarrollaron atrofia nasal (a pesar de que sus madres fueron inmunizadas) utilizando una prueba de ELISA y tres antígenos diferentes de *B. bronchiseptica*: un extracto de antígenos de superficie lipopolisacárido y un antígeno proteico purificado y con actividad de adenil-ciclase. Mientras que los lechones no protegidos mostraron un alto título de anticuerpos contra el lipopolisacárido, los lechones protegidos reaccionaron preferentemente con el antígeno purificado. Otra observación interesante en este estudio fue que la eficacia de las bacterinas en la prevención de la RA no correlacionó con pruebas de potencia en ratón. Cabe recordar que ensayos de potencia de bacterinas

de *B. bronchiseptica* en esta especie han sido utilizados como indicadores de la eficacia de estos inmunógenos en el cerdo (94,95).

V. Conclusiones y comentarios finales

El presente trabajo pretende hacer una revisión de la información existente en relación a la asociación de *B. bronchiseptica* con la RA porcina. La necesidad de revisar estos aspectos resulta importante en estos momentos en los que se ha venido acumulando información en relación a la participación de otro germen, *P. multocida* serotipo D y productora de toxina dermonecrótica, en la etiología de la enfermedad. No se pretende poner en duda el papel que *P. multocida* juega en los casos severos y progresivos de la enfermedad ni ignorar que cuando *B. bronchiseptica* es el único agente involucrado la enfermedad es leve y tiende a desaparecer espontáneamente. Sin embargo, si debe subrayarse que en muchas ocasiones la enfermedad es un proceso que se inicia desde los primeros días de vida del lechón con la colonización del tracto respiratorio con *B. bronchiseptica*. Esta colonización resulta en la destrucción de los cilios del epitelio los cuales forman parte importante de los mecanismos de resistencia a infecciones a este nivel. Esto facilita y permite la posterior colonización con *P. multocida*, la que, por lo menos en las primeras semanas de vida de los animales, no parece hacerlo muy eficazmente por sí sola. Es en este contexto, en donde debe considerarse a *B. bronchiseptica* como el agente primario o primero en el proceso aunque no necesariamente sea el responsable de las lesiones severas observadas en los últimos estadios de la enfermedad.

Al considerar a *B. bronchiseptica* como agente etiológico de la RA debemos hacer distinciones entre cepas patógenas y apatógenas del germen. Hasta hace poco esta distinción no era fácil de establecer en el laboratorio. En la actualidad existe un marcador, la enzima adenil-ciclasa, la cual, por lo menos a nivel de estudios preliminares, parece permitir hacer esta distinción. Se antoja interesante tratar de extender estas observaciones con cepas del microorganismo aisladas de granjas de nuestro país y tratar de establecer alguna relación

entre patogenicidad de *B. bronchiseptica* y severidad de la enfermedad.

Con relación a la patogenia de la enfermedad y concretamente la destrucción de los cornetes nasales, aún se desconocen los mecanismos que la provocan. Sin duda la identificación de la toxina dermonecrótica de *P. multocida* es un paso hacia adelante en este sentido. Lo mismo ocurre en el caso de la enzima adenil-ciclase para el género *Bordetella*. La asociación entre esta enzima y la virulencia de *B. pertussis* parece estar bien establecida. En el caso de *B. bronchiseptica* sabemos que esta presente en cultivos de cepas patógenas y ausente en cepas apatógenas. Un aumento pronunciado en los niveles de AMPc en el tejido óseo de los cornetes nasales del cerdo en crecimiento pudiera ser un factor desencadenante en la atrofia de los mismos. Esto es meramente especulativo y requeriría su confirmación experimental.

La inmunización de la cerda gestante ha sido una de las medidas de control de la RA empleadas con mayor frecuencia en los últimos años. Los resultados obtenidos, en general, han sido favorables aunque se han descrito casos en los que la vacunación no ha reducido la prevalencia de la enfermedad. Hasta hace muy poco tiempo no se tenía información en relación a la especificidad de la respuesta inmune inducida por diferentes bacterinas conteniendo *B. bronchiseptica*. Hoy sabemos que el título de anticuerpos contra ciertos antígenos de este germen (como la enzima adenil-ciclase) correlaciona positivamente con la prevención de las lesiones nasales típicas de la enfermedad. Por otro lado, bacterinas ineficaces siguen siendo inmunogénicas aunque la especificidad de los anticuerpos inducidos es distinta ya que prevalecen anticuerpos, por ejemplo, contra el lipopolisacárido de la bacteria. Cabe recordar que este tipo de anticuerpos son los identificados en pruebas de aglutinación por lo que los resultados obtenidos con esta prueba, cuando se trata de la evaluación del estado inmune de un animal, deben tomarse con precaución.

AGRADECIMIENTO

El autor agradece a la Sra. Ma. Luisa Fraire C., el mecanografiado de este trabajo.

REFERENCIAS

1. Backstrom, L., Bremer, H., Dyrncdahl, I. and Olsson, H.: Atrophic rhinitis in pigs. A study on the effect of the disease on growth, its relationship with the age of sows and the genetic predisposition in a herd with high incidence on rhinitis. *Svensk Veterinartidning*. 28:449-455, 1976.
2. Goodnow, R. A" Lehr, C. D. and McLennan, J.: Effect or immunization with a *Bordetella bronchiseptica* bacterin on weight gain in weaning pig. *Vet Med./Small. Ani"*, *Glin*. 73:1187-1188, 1978.
3. Pedersen, K. and Barford, K.: The etiological significance of *Bordetella bronchiseptica* and *Pasteurella multocida* in atrophic rhinitis of swine. *Nord. Vet. Med.* 33:513~522, 1981.
4. Backstrom, L. Hoefling, D., Markoe, A., Vinson, R. and Smith, A. R.: Atrophic Rhinitis in swine I: clinical signs, slaughter lesions, daily weight gain, disease transmission. *Proceed. Int. Pig. Vet. Soc. Congress*, Mexico City, pp. 116, 1982.
5. Kobisch, M.: *Bordetella bronchiseptica* in SPF piglets: an experimental model. *Proceed. Int. Pig. Vet. Soc. Congress*, Ghent. pp. 160, 1984.
6. Bjorklund, N. E. and Henrieson, B.: Studies on pneumonia and atrophic rhinitis in pigs. I. On variation caused by environment, breed and sex. *Nord. Vet. Med.* 17:137-146, 1966.
7. Pearce, H. G. and Roe, C. K.: Atrophic rhinitis-epidemiology and effect on the disease on maturity time of market pigs. *Can. Vet. J.* 8:186-188, 1967.
8. Straw, B. S.: Studies on pneumonia, atrophic rhinitis, rate of gain, breed and their interactions in finishing pigs. *Proceed. Int. Pig Vet. Soc. Congress*, Mexico City. pp. 115, 1982.
9. Love, R. J., Wilson, M. R. and Tasler, G.: Porcine atrophic rhinitis. *Austr. Vet. J.* 62:377-378, 1985.
10. Switzer, W. P.: Studies on infectious atrophic rhinitis. V. Concept that several agents may cause turbinate atrophy. *Am. J. Vet. Res.* 17:478-484, 1956.
11. Ross, R. F., Duncan, J. R. and Switzer, W. P.: Turbinate atrophy in swine produced by pure cultures of *Bordetella bronchiseptica*. *Vet. Med.* 58:566-570, 1963.
12. Duncan, J. R., Ross, R. F., Switzer, W. P. and Ramsey, F. K.: Pathology of experimental *Bordetella bronchiseptica* infection in swine: atrophic rhinitis. *Am. J. Vet. Res.* 27:457-466, 1966.
13. Ross, R. F., Switzer, W. P. and Duncan, R. J.: Comparison of pathogenicity of various isolates of *Bordetella bronchiseptica* in young pig. *Can. J. Compo Med. Vet. Sci.* 31:53-57, 1967.
14. Cross, R. F. and Claflin, R. M.: *Bordetella bronchiseptica*-induced porcine atrophic rhinitis. *J. Am. Vet. Med. Assn.* 141:1467-1468. 1962.
15. Skelly, B. J., PRUSS, M., Pellegrino, R., Andersen, D. and Abruzzo, G.: Variation in degree of atrophic rhinitis with field isolates of

- Bordetella bronchiseptica*. *Proceed. Int. Pig. Vet. Soc. Congress*. Copenhagen. pp. 210, 1980.
16. Nakagawa, M., Shimizu, T. and Motai, Y.: Pathology of experimental atrophic rhinitis in swine infected with *Alcaligenes bronchisepticus* or *Pasteurella multocida*. *Nat. Inst. Anim. Hlth. Quart.* 14:61-71, 1974.
 17. Dun, J. W.: *Bordetella bronchiseptica* and atrophic rhinitis (abstract). *J. Am. Vet. Med. Assn.* 168:252, 1975.
 18. Edington, N., Smith, I. M., Plowright, W. and Watt, R. G.: Relationship of porcine cytomegalovirus and *Bordetella bronchiseptica* to atrophic rhinitis in gnotobiotic piglets. *Vet. Rec.* 98:42-45, 1976.
 19. Brassinne, M., Dewaele, A. and Gouffaux, M.: Intranasal infection with *Bordetella bronchiseptica* in gnotobiotic piglets. *Res. Vet. Sci.* 20:162-166, 1976.
 20. Miniats, O. P. and Johnson, J. A.: Experimental atrophic rhinitis in gnotobiotic pigs. *Can. J. Compo Med. Vet. Sci.* 44:358-365, 1980.
 21. Collings, L. A. and Rutter, J. M.: Virulence of *Bordetella bronchiseptica* in the porcine respiratory tract. *J. Med. Microbiol.* 19: 247-258, 1985.
 22. Cross, R. F. and Claflin, R. M.: *Bordetella bronchiseptica*-induced porcine atrophic rhinitis. *J. Am. Vet. Med. Assn.* 141:1467-1468, 1962.
 23. Switzer, W. P. and Farrington, D. O.: Progress in the control of atrophic rhinitis caused by *Bordetella bronchiseptica* in swine. *J. Am. Vet. Med. Assn.* 161:1325-1331, 1972.
 24. Backstrom, L., Hoefling, D., Morkoc, A., Vinson, R. and Smith, A. R.: Atrophic rhinitis in swine. II. Bacteriology, *Pasteurella multocida* serotypes and pathogenicity in mouse virulence tests, preventive medication and vaccinations. *Proceed. Int. Pig. Vet. Soc. Congress*. Mexico City. pp. 122, 1982.
 25. Maeda, M., Tokuhisa, S. and Shimizu, T.: Nasal lesions and *Alcaligenes bronchisepticus* infection in swine atrophic rhinitis. *Nat. Inst. Anim. Hlth. Quart.* 11:151-158, 1971.
 26. Tornoe, N., Nielsen, N. C. and Svendsen, J.: *Bordetella bronchiseptica* isolations from the nasal cavity of pigs in relation to atrophic rhinitis. *Nord. Vet. Med.* 28:1-18, 1976.
 27. Giles, C. J., Smith, I. M., Baskerville, A. J. and Brothwell, E.: Clinical, bacteriological and epidemiological observations on infectious atrophic rhinitis of pigs in southern England. *Vet. Rec.* 106:25-28, 1980.
 28. Akkermans, J. P., Ouwerkerk, M. H. and Terpstra, J. I.: *Bordetella bronchiseptica* and infection of the nasal cavity of swine. *Neth. J. Vet. Sci.* 2:76-83, 1969.
 29. Korenfield-Kleiman, L.: Observaciones sobre la frecuencia de la rinitis atrófica porcina en diversos rastros del Distrito Federal y el Estado de México. *Tesis profesional*, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia (UNAM), 1977.
 30. Mendoza, S., Ciprian, A. y Camacho, J.: Identificación de cepas

- toxigénicas de *Bordetella bronchiseptica* y *Pasteurella multocida* serotipo D de casas de rinitis atrófica. *Resumen del XVII Congreso Nacional de Microbiología*. Puebla. 195, 1986.
31. Nielsen, N. C., Riising, H. J. and Bille, N.: Experimental reproduction of atrophic rhinitis in pigs reared to slaughter weight. *Proceed. Int. Pig Vet. Soc. Congress*. Ames Iowa, E. U., pp. 1, 1976.
 32. Smith, I. M., Giles, C. J. and Baskerville, A. J.: Immunization of pigs against experimental infection with *Bordetella bronchiseptica*. *Vet. Rec.* 110:488-494, 1982.
 33. Rutter, J. M. and Rojas, X.: Atrophic rhinitis in gnotobiotic piglets: differences in the pathogenicity of *Pasteurella multocida* in combined infections with *Bot'detella bronchiseptica*. *Vet. Rec.* 110:531-535, 1982.
 34. Dirks, C., Schoss, P. and Schimmelpfennig, H.: Etiology of atrophic rhinitis of swine. *Dt. Tieraztl. IV schr.* 80: 342-345 y 380-382, 1975.
 35. Martineau, G. P., Broes, A., De Jong, M. F. and Martineau-Doize, B.: Experimental reproduction of atrophic rhinitis with *Pasteurella multocida* on gnotobiotics and conventional pigs. *Proceed. Int. Pig Vet. Soc. Congress*, Mexico City. pp. 88, 1982.
 36. Schoss, P. and Thiel, C. P.: Occurrence of toxin producing strains of *Pasteurella multocida* and *Bordetella bronchiseptica* in pig herds with atrophic rhinitis and in infected herds. *Proceed. Tnt. Pig Vet. Soc. Congress*, Ghent. pp. 162, 1984.
 37. Jong de, M. F., Dei, H. L. and Tetenburg, G. J.: AR-pathogenicity tests for *Pasteurella multocida* isolates. *Proceed. Int. Pig Vet. Soc. Congress*, Copenhagen. pp. 211, 1980.
 38. Rutter, J. M. and MacKenzie, A.: Pathogenesis of atrophic rhinitis in pigs: a new perspective. *Vet. Rec.* 114:89-90, 1984.
 39. Jong de, M. F., De Watcher, J. C. and Marel, G. M.: Atrophic rhinitis in pigs induced by the intramuscular administering of "the AR-toxin" containing bacteria-free broth culture filtrate. *Proceed. Int. Pig Vet. Soc. Congress*, Ghent, pp. 161, 1984.
 40. Harris, D. L. and Switzer, W. P.: Turbinate atrophy in young pigs exposed to *Bordetella bronchiseptica*, *Pasteurella multocida* and combined inoculum. *Am. J. Vet. Res.* 29:777-785, 1968.
 41. Pedersen, K. B. and Elling, F.: Persistent atrophic rhinitis induced by desmonecrotic *Pasteurella multocida*. *Proceed. Int. Pig Vet. Soc. Congress*, Ghent. pp. 158, 1984.
 42. Duncan, J. R. and Ramsey, F. K.: Fine structural changes in the porcine nasal ciliated epithelial cells produced by *Bordetella bronchiseptica* rhinitis. *Ant. J. Path.* 47:601-612, 1965.
 43. Duncan, J. R., Ross, R. F., Switzer, W. P. and Ramsey, F. K.: Pathology of experimental *Bordetella bronchiseptica* infection in swine: Atrophic rhinitis. *Am. J. Vet. Res.* 27:457-466, 1966.
 44. Maeda, M. and Shimizu, T.: Lesions of experimental swine atrophic rhinitis and *Alcaligenes bronchiseptica* antigen detected by fluorescent antibody technique. *Nat. Inst. Anim. Hlth. Quart.* 14:188198, 1974.

45. Yokomizo, Y. and Shimizu, T.: Adherence of *Bordetella bronchiseptica* to swine nasal epithelial cells and its possible role in virulence. *Res. Vet. Sci.* 27:15-21, 1979.
46. Matsuyama, T. and Takino, T.: Scanning electron microscopic studies of *Bordetella bronchiseptica* on the rabbit tracheal mucosa. *J. Med. Microbiol.* 13:159-161, 1980.
47. Bemis, D. A. and Appel J. G.: Aerosol, parenteral and oral antibiotic treatment of *Bordetella bronchiseptica* infections in dogs. *J. Am. Vet. Med. Aesn.* 170:1082-1086, 1977.
48. Tuomanen, E. and Weiss, A.: Charracterization of two adhesins of *Bordetella pertussis* for human ciliated respiratory-epithelial cells. *J. Infect. Dis.* 152:118-125, 1985.
49. Bemis, D. A., Greisen, H. A. and Appel, M. J. G.: Pathogenesis of canine bordetellosis. *J. Infect. Di8.* 1.35:753-762, 1977.
50. Bemis, D. A. and Kennedy, J. R.: An improved system for studying the effect of *Bordetella bronchiseptica* on the ciliary activity of canine tracheal epithelial cells. *J. Infect. Dis.* 144:349-357, 1981.
51. Bemis, D. A. and Wilson, S. C.: Influence of potential virulence determinants on *Bordetella bronchiseptica*-induced ciliostasis. *Infect. Immun.* 50 :35-42, 1985.
52. Evans, D. G. and Maitland, H. B.: The toxin of *Bordetella bronchiseptica* and the relationship of this organism to *Haemophilus pertussis*. *J. Pathol. Bacteriol.* 48:67-78, 1939.
53. Nakase, Y.: Studies on *Haemophilus bronchisepticus*. III. Differences of biological properties between phase I and phase III of *Haemophilus bronchisepticus*. *Kitasato Arch. Exp. Med.* XXX: 79-84, 1957.
54. Hanada, M., Shimoda, K., Tomita, S., Nakase, Y. and Nishiyama, Y.: Production of lesions similar to naturally occurring swine athrophic rhinitis by cell free sonicated extract of *Bordetella bronchiseptica*. *Jap. J. Vet. Sci.* 41:1-8, 1979.
55. Harris, R. A., Harris, D. L. and Green, D. E.: Effect of *Bordetella* endotoxin upon mitochondrial respiration and energized processes. *Arch. Biochem. Bioph.* 128:219-230, 1968.
56. Harris, D. L., Switzer, W. P. and Harris, R. A.: A suggested mechanism for the pathogenesis of infectious atrophic rhinitis. *Can. J. Compo Med.* 35:318-323, 1971.
57. Hewlett, E. and Wolff, J.: Soluble adenylate cyclase from the culture medium of *Bordetella pertussis*: purification and characterization. *J. Bacteriol.* 127:890-898, 1976.
58. Endoh, M., Toshiyuki, T. and Nakase, Y.: Adenylate cyclase activity of *Bordetella* organisms. I. Its production in liquid medim. *Microbiol. Immunol.* 24:95-104, 1980.
59. Hall, G. W., Dobrogosa, W. J., Ezzell, J. W., Kloos, W. E. and Manclark, C. R.: Represion of adenylate cyclase in the genus *Bordetella*. *Microbios.* 33:45-52, 1982.
60. Confer, D. L. and Eaton, J. W.: Phagocyte impotence caused by an invasive bacterial adenylate cyclase. *Science.* 217:948-950, 1982.

61. Weiss, A. A., Hewlett, E. L., Myers, G. A. and Kalkow, S.: Pertussis toxin and extracellular adenylate cyclase as virulence factors of *Bordetella pertussis*. *J. Infect. Dis.* 50:219-222, 1984.
62. Montaraz, J. A., Novotny, P. and Ivanyi, J.: Identification of a 68-kilodalton protective antigen from *Bordetella bronchiseptica*. *Infect. Immun.* 47:744-751, 1985.
63. Novotny, P., Chubb, A. P., Cownley, K. and Montaraz, J. A.: Adenylate cyclase activity of a GS, ODD-molecular-weight protein isolate from the outer membrane of *Bordetella bronchiseptica*.
64. Sheppard, J. R.: Restoration of contact-inhibited growth to transformed cells by dibutyl adenosine 3'5'-cyclic monophosphate. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* 68:1316-1320, 1971.
65. Otten, J., Johnson, G. S. and Pastan, I.: Regulation of cell growth by cyclic adenosine 3'5'-monophosphate. *J. Biol. Chem.* 247:7082-7087, 1972.
66. Drezner, M. K., Neelon, F. A. and Lebovitz, H. E.: Stimulation of cartilage macromolecule synthesis by adenosine 3'5'-monophosphate. *Biochem. Biophys. Acta.* 425:521-531, 1976.
67. Leppla, S. H.: Anthrax toxin edema factor: A bacterial adenylate cyclase that increases cyclic AMP concentrations in eukaryotic cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 79:3162-3166, 1982.
68. Rutter, J. M., Francis, L. M. A. and Sansom, B. F.: Virulence of *Bordetella bronchiseptica* from pigs with or without atrophic rhinitis. *J. Med. Microbiol.* 15:105-116, 1982.
69. Rutter, J. M.: Virulence of *Pasteurella multocida* in atrophic rhinitis of gnotobiotic pigs infected with *Bordetella bronchiseptica*. *Res. Vet. Sci.* 34:287-295, 1983.
70. Pedersen, K. B.: The serology of *Bordetella bronchiseptica* isolated from pigs compared with strains from other animal species. *Acta Path. Microbiol. Scand. Sect. B* 83:51-59, 1975.
71. Swizer, W. P.: Elimination of *Bordetella bronchiseptica* from the nasal cavity of swine by sulfonamide therapy. *Vet. Med.* 58:571-575, 1963.
72. Farrington, D. C. and Shively, J. E.: Effect of carbadox on growth, feed utilization and development of nasal turbinate lesions in swine infected with *Bordetella bronchiseptica*. *J. Am. Vet. Med. Assn.* 174:597-600, 1979.
73. Giles, C. T., Smith, I. M., Baskerville, A. J. and Oliphant, J.: Chemotherapy with sulphadiazine-trimethoprim combination in experimental *Bordetella bronchiseptica* infection in young pigs. *Proceed. Int. Pig Vet. Soc. Congress.* Copenhagen. pp. 206, 1980.
74. White, G. and Dassanayake, L.: Strategic dosing of porcine bordetellosis with a trimethoprim/sulphadiazine mixture and its effect of TMP-resistant fecal coliforms. *Proceed. Int. Pig. Vet. Soc. Congress.* Copenhagen. pp. 207, 1980.
75. Farrington, D. O. and Switzer, W. P.: Evaluation of nasal culturing procedures for the control of atrophic rhinitis caused by

- Bordetella bronchiseptica* in swine. *J. Am. Vet. Med. Assn.* 170: 34-36, 1977.
76. Done, J. T.: Infectious atrophic rhinitis of pigs: rational control at the herd level. *Vet. Annual.* 15:105-110, 1975.
 77. Penny, R. H.: The influence of management changes on the disease picture in pigs. *Vet. Annual.* 17:111-122, 1977.
 78. Harris, D. L. and Switzer, W. P.: Nasal and tracheal resistance of swine against reinfection by *Bordetella bronchiseptica*. *Am. J. Vet. Res.* 30:1162-1166, 1969.
 79. Hanis, D. L. and Switzer, W. P.: Immunization of pigs against *Bordetella bronchiseptica* infection by parenteral vaccination. *Am. J. Vet. Res.*, 33:1975-1984, 1972.
 80. Giles, C. J. and Smith, I. M.: Vaccination of pigs with *Bordetella bronchiseptica*. *Vet. Bulletin.* 53:327-338, 1983.
 81. Koshimizu, I., Kodama, Y. and Ogata, M.: Studies on the etiology of infectious atrophic rhinitis of swine. VI. Effect of vaccination against nasal establishment of *Bordetella bronchiseptica*. *Jap. J. Vet. Sci.* 35:411-418, 1973.
 82. Kemeny, L. J.: Agglutination response of pigs to intranasal infection of *Bordetella bronchiseptica*. *Gornell Vet.* 63: 130-137, 1973.
 83. Goodnow, R. A.: Control of atrophic rhinitis with a *Bordetella bronchiseptica* bacterin. *Vet. Med/Small Anim.Clin.* 72:1210-1212. 1977.
 84. Goodnow, R. A., Shade, F. J. and Switzer, W. P.: Efficacy of *Bordetella bronchiseptica* bacterin in controlling enzootic atrophic rhinitis in swine. *Am. J. Vet. Res.* 40:58-60, 1979.
 85. Wisecarver, J. L. and Goodnow, R. A.: Efficacy of an intranasal live *Bordetella bronchiseptica* vaccine in controlling swine atrophic rhinitis. *Proceed. Int. Pig; Vet. Soc. Congress.* Copenhagen. pp. 205, 1980.
 86. Daniel, M., Echuiman, J. and Knudtson, W.: A new approach for control of atrophic rhinitis: immunization of the sow (orally) and the piglet (intranasally). *Proceed. Int. Pig. Vet. Soc. Congress.* Mexico City. pp. 120, 1982.
 87. Jong de, M. F. and Rondhuis, P. R.: Difference between experimental and field trials with a live AR non-pathogen *Bordetella bronchiseptica* vaccine. *Proceed. Int. Pig Vet. Soc. Congress.* Mexico City. pp. 118, 1982.
 88. Barford, K. and Pedersen, K. B.: Synergism between *Bordetella bronchiseptica* and a toxin-producing strain of *Pasteurella multocida* in the causation of atrophic rhinitis in SPF-pigs. *Proceed. Int. Pig Vet. Soc. Congress.* Mexico City. pp. 112, 1982.
 89. Sharpee, R. L., Nelson, L. D., Keich, R. L., Swieczkowski, T. C. and Beckenhauer, W. H.: Evaluation of a bacterin (Rhinobac P) for the control of atrophic rhinitis and pneumonic pasteurellosis. *Proceed. Int. Pig Vet. Soc. Congress.* Ghent. pp. 173, 1984.
 90. Baars, J. C., Jong de, M. F., Storm, P. K. Willems, H. and

- Pennings, A.: Atrophic rhinitis and its control with an adjuvant vaccine consisting of *Bordetella bronchiseptica* y *Pasteurella multocida* strains. *Proceed. Int. Pig Vet. Soc. Congress*. Mexico City. pp.121,1982.
91. Jong de M. F., van der Epik, P. A. and van der Heyden, P.: An experience with the use of a PM-AR toxin vaccine combating AR in practice. *Proceed. Inst. Pig. Vet. Soc. Congress*. Mexico City. pp. 119, 1982.
 92. Pedersen, K. B. and Barford, K.: Effect of vaccination of sows with *Bordetella bronchiseptica* on the incidence of atrophic rhinitis in swine. *Nord. Vet. Med.* 29:369-375, 1981.
 93. Novotny, P., Kobisch, M., Cownley, K., Chubb, A. P. and Montaraz, J. A.: Evaluation of *Bordetella bronchiseptica* vaccine in specific-pathogen-free piglets with bacterial cell surface antigens in enzyme-linked-immunosorbent assay. *Infect. Immun.* 50:190-198, 1985.
 94. Goodnow, R. A., Lehr, C. D., Shade, F. J. and Wisecarrer, J. L.: Mouse potency assay for *Bordetella bronchiseptica* bacterins. *J. Clin. Microbial.* 6:337-339, 1977.
 95. Smith, I. M., Baskerville, A. J., Brothwell, E. and Oliphant, J.: Immunogenicity of killed *Bordetella bronchiseptica* vaccines in the mouse. *Res. Vet. Sci.* 32:248-252, 1982.