

ACTINOBACILLUS PLEUROPNEUMONIAE: SITUACIÓN EN ARGENTINA

Med. Vet. PhD. Gustavo C. Zielinski*. 2006. Vº Congreso de Producción Porcina del Mercosur, Río Cuarto.

*Sanidad Animal, INTA, EEA Marcos Juárez; Fac. de Cs. Veterinarias, UNR.

www.produccion-animal.com.ar

Volver a: [Vº Congreso](#)

INTRODUCCIÓN

Durante los últimos años se produjeron sustanciales cambios en los sistemas productivos porcinos en Argentina y a su vez se realizaron ciertos avances en el diagnóstico y control de las enfermedades enunciadas, a nivel mundial.

El objetivo de este trabajo apunta a comunicar estos eventos a fin de estimular la discusión sobre ellos y así colaborar con el establecimiento de nuevos criterios de diagnóstico y control de estas enfermedades en nuestro medio.

PLEURONEUMONÍA POR ACTINOBACILLUS PLEUROPNEUMONIAE (APP)

Epidemiología

a) *Serotipos*: tradicionalmente en Argentina los serotipos de App descritos eran el **serotipo 1**, que pareciera ser o haber sido el más frecuentemente aislado (Perfumo y cols, 1981), y el **serotipo 5** (Vena, 1990).

Sin embargo en el curso de los últimos 10 años se agregaron los **serotipos 8** (Zielinski y cols, 1996), **serotipo 12** (Vena y cols, 1997), **serotipo 7** (Moredo y cols, 1999), **serotipo 3** (Di Cola y Zielinski, no publicado, 2004) y el **serotipo 15** (Zielinski y cols, en prensa, 2005). Esto complica el panorama inmunológico ya que se sabe que no existen reacciones cruzadas entre los serotipos 1, el 5, el 7, el 12 con el resto de los enunciados, aunque sí existen entre el 3 y el 8. El caso del serotipo 15 es particular, ya que últimamente se estudió y publicó la composición de los polisacáridos de membrana que caracterizan al serotipo, siendo idénticos a los del serotipo 3 (Perry y cols, 2005). Podría especularse que la cepa del serotipo 15 aislada en Argentina puede ser idéntica a las cepas del serotipo 3 o tener una estrechez inmunológica muy importante.

No se han aislado hasta el presente cepas del biotipo II de App (NAD-independiente), aunque sí se comunicó el aislamiento de *Actinobacillus suis* que es un organismo muy parecido fenotípicamente al App biotipo II (Di Cola y cols, 2003). También se han aislado cepas de *Actinobacillus-like* no App, organismos NAD-dependientes, a partir de pulmones de cerdos con lesiones de bronconeumonía, cuyo rol etiológico se desconoce (Zielinski y Gottschalk, no publicado, 2004).

La existencia de diversos serotipos en el campo, la carencia de estudios sistematizados sobre la importancia relativa de esos serotipos y aún la imposibilidad técnica de serotipificar aislamientos en nuestro país, conspira contra el control de la enfermedad a nivel regional e incluso intrapredial. Está probado que en una misma granja pueden actuar distintos serotipos, con diverso grado de patogenicidad de acuerdo al perfil toxigénico que expresen, complicando el cuadro inmunológico (Chiers y cols, 2002).

Así mismo se sabe que la inmunidad de base poblacional serotipo-específica que se establece a nivel granja luego de sucesivos brotes de enfermedad, puede desestabilizarse por la aparición en el medio de serotipos heterólogos que generalmente entran a las granjas a través de la adquisición de animales portadores subclínicos. De allí que es importante conocer el/los serotipo/s que endémicamente infectan a los núcleos genéticos y el/los serotipo/s que subclínicamente están presentes en las granjas comerciales para evitar la mezcla de ellos que conlleve con una ruptura de la inmunidad poblacional y la aparición de brotes clínicos con desastrosas consecuencias.

A modo de resumen, hasta el presente los distintos biotipos y serotipos de App identificados a nivel mundial y en Argentina pueden apreciarse en la Tabla 1.

Tabla 1: Diferentes serotipos y biotipos de *Actinobacillus pleuropneumoniae* descriptos hasta el presente (Gottschalk, 2005, comunicación personal)

Serotipo de App	Biotipo	Presente en América del Norte	Presente en Argentina
1	I	Si	Si
2	I y II ^a	Si ^b	No
3	I	Si	Si
4	I y II ^a	Si ^b	No
5 ^a	I	Si	Si ^c
5b	I	Si	Si ^c
6	I	Si	No
7	I y II ^a	Si ^b	Si ^b
8	I	Si	Si
9	I y II ^a	No	No
10	I	Si	No
11	I	No	No
12	I	Si	Si
13	II	No	No
14	II	No	No
15	I	Si	Si

^aLas cepas del biotipo I y II difieren en virulencia y producción de toxinas

^bSolo cepas del biotipo I fueron aisladas. ^cNo se discriminó a que subtipo pertenecían.

b) *Transmisión*: aparentemente hay coincidencia en que la transmisión de App es por vía horizontal principalmente por contacto directo entre animales infectados y susceptibles. En un muy prolijo estudio Vigre y cols. (2002) determinaron que **lechones lactantes de 11 días de vida, nacidos de madres positivas a App, podían ser positivos a la infección en presencia de anticuerpos calostrales**, habiendo detectado el organismo a nivel tonsilar por PCR. Sin embargo, solo 1 animal resultó positivo sobre un total de 47, lo que evidenciaría que ésta no es la edad en que más frecuentemente ocurre la infección en los lechones. Sin embargo, este pequeño número de animales infectados podría ser la semilla que difunda la infección en animales mayores. En el mencionado estudio **el 70% de los infectados fue detectado a la edad de 9 semanas** (o sea 6 semanas luego del destete), alcanzando el 100% de infectados a las 17 semanas de vida. Los valores de anticuerpos calostrales cayeron a 0 entre las 4 y las 10 semanas para los serotipos 3 y 2 respectivamente, aunque estos valores son proporcionales a la concentración de anticuerpos calostrales en suero y pueden variar. O sea, se observa que la decadencia de la concentración de anticuerpos calostrales coincide temporalmente con el aumento de la infección a nivel tonsilar. En ese estudio la duración de la infección tonsilar fue de 8 semanas, aunque los animales fueron sacrificados cuando llegaron al peso de faena, por tanto en realidad la infección tonsilar puede haber sido mucho más prolongada. La seroconversión de los animales infectados (definiéndose como animales infectados a los positivos a App a nivel tonsilar) se observó entre 2 y 4 semanas luego de la detección de la infección. En otro estudio Vigre y cols (2003) determinaron que la duración de la inmunidad calostrales duraba entre 2 semanas y 2 meses, principalmente dependiendo este periodo en el nivel inicial de anticuerpos calostrales ingeridos.

En otro trabajo, Chiers y cols. (2002) estudiaron los perfiles serológicos y de infección en distintas granjas, con distinto tipo de instalaciones. Demostraron que la infección por App serotipo 2, en un estudio longitudinal, se establecía en animales de 12 semanas, donde también encontraron lesiones compatibles con infección por App. A las 16 semanas encontraron en los mismos animales infección por serotipo 10, especulando que la misma era producto de la mezcla de los animales en el engorde (que no estaba compartimentalizado). En otras granjas determinaron que los títulos de anticuerpos calostrales decrecían a las 8 semanas de vida, estableciéndose seroconversión a partir de las 16 semanas, lo que denotaba que la infección se producía a partir de la 12^a semana. Estos autores encontraron colonización de tonsilas y cavidad nasal por App a partir de las 4 semanas de vida, **confirmando que puede establecerse la infección en presencia de anticuerpos calostrales**, pero no encontraron colonización pulmonar hasta las 12 semanas, especulando que tales anticuerpos podrían prevenir la infección pulmonar. Sin embargo animales con tonsilas y cavidad nasal positivas eran negativos serológicamente, sugiriendo que tal infección no provoca seroconversión. No obstante ello debe considerarse que el método serológico utilizado tal vez no era lo suficientemente sensible para detectarlos.

En cuanto a la vía de transmisión de la infección Kristensen y cols. (2004) midieron la cantidad de aire que es necesaria para transmitir la infección desde un local con animales infectados a otro con animales susceptibles. Encontraron que para que ésta sea transmitida consistentemente, la cantidad de aire necesaria era del 70%, o sea,

que el 70% del aire originario del local infectado debía pasar al local susceptible. Un 10% de volumen de aire de uno a otro local no producía infección consistente. La cantidad de aire que es capaz de ingresar a un local no infectado desde un local infectado en condiciones naturales no supera al 2%, **por tanto concluyen que la transmisión de App a través del aire es un evento raro.**

Diagnóstico

El diagnóstico de pleuroneumonía por *Actinobacillus pleuropneumoniae* puede realizarse a través de distinta metodología: a) **el diagnóstico clínico-anatomopatológico**, por observación de síntomas y lesiones típicas, se utiliza en casos agudos, subagudos y crónicos de la enfermedad, pero no es posible utilizarlo para la detección de infecciones subclínicas o asintomáticas. Sin embargo es útil y bastante eficiente en los casos mencionados. b) **el diagnóstico bacteriológico** complementa al anterior, constituyendo el diagnóstico de certeza, pero no discrimina, a menos que se utilicen técnicas moleculares modernas, al serotipo actuante en el brote o infección subclínica del animal muestreado. c) **el diagnóstico serológico** es de utilidad para determinar presencia o ausencia de infección a nivel granja o portadores inaparentes, pero no es eficiente para realizar diagnósticos etiológicos en brotes agudos en granjas primoinfectadas. Por tanto puede deducirse que de acuerdo a las necesidades y situación epidemiológica del problema en estudio deberán utilizarse en forma combinada.

El **diagnóstico bacteriológico** fue últimamente modernizado y significativos avances se establecieron en ese campo. En general las técnicas de cultivo tradicionales a partir de muestras de pulmón, hisopados nasales o tonsilares tienen una sensibilidad **relativamente baja** en comparación con técnicas modernas. Dentro de éstas, los métodos de **separación inmunomagnéticos** representaron un avance significativo en las técnicas de cultivo de App al ser más sensibles que los métodos bacteriológicos tradicionales (Angen y cols., 2001), pero resultan un tanto engorrosas y caras. En Argentina no se han aplicado al aislamiento de App.

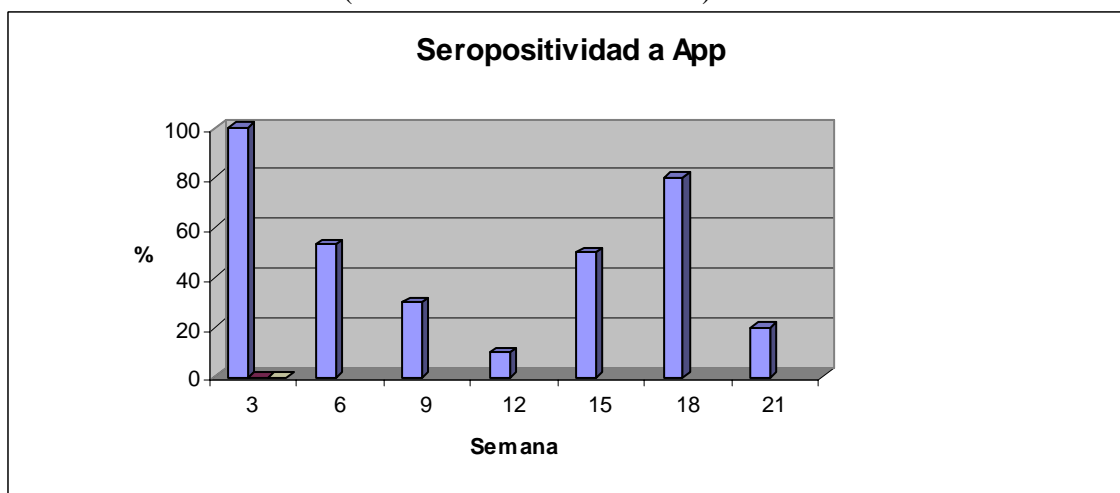
El diagnóstico bacteriológico ha sido bien complementado por el desarrollo de técnicas moleculares de las cuales la **reacción en cadena de la polimerasa** (PCR, acrónimo en inglés), por su simpleza y practicidad es la más utilizada. En 1998 Gram y Ahrens informaron acerca de una técnica de PCR para diagnóstico de App basado en la amplificación de un fragmento del gen que codifica a una proteína de membrana externa (*omlA*), que resultó ser muy sensible y específico para los 12 serotipos de App conocidos entonces. Posteriormente la técnica fue mejorada, amplificando secuencias del mismo gen que eran capaces de agrupar distintos serotipos, permitiendo así tener una idea del serovar a que pertenecían los aislamientos en estudio (Gram y cols, 2000). Posteriormente Schaller y cols (2001) informaron acerca de una prueba de PCR que identificaba al App a través de la amplificación de una fracción génica codificante de la toxina *apxIVA*, que resultó ser mucho más sensible que el cultivo bacteriológico tradicional. Fittipaldi y cols (2003) más recientemente compararon distintas técnicas de PCR contra cultivos tradicionales de tonsilas y **concluyeron que la PCR era más sensible que el cultivo tradicional ya que aún podía detectar al organismo en muestras donde había perdido la viabilidad y que tenía buena correlación con los animales serológicamente positivos**, proponiendo que podía ser utilizado como método complementario de diagnóstico en los animales serológicamente positivos. Otros investigadores desarrollaron métodos de PCR multiplex con el objetivo de identificar especie y serotipo al mismo tiempo, usando los "primers" adecuados (Jessing y cols, 2003).

En Argentina desconocemos que hasta el momento de la escritura del presente informe se hayan montado PCRs para detección y/o serotipificación de App y se estén utilizando en forma rutinaria. En el INTA Marcos Juárez se está trabajando en el montaje de una prueba de PCR basada en la amplificación del gen *omlA* con buenos resultados, en vistas a preparar otras pruebas que sean capaces no solo de identificar especie sino serotipo. Las pruebas moleculares junto a las modernas técnicas serológicas que a continuación describiremos creemos que son clave en el diagnóstico de la infección por App en situaciones subclínicas, y posibilitarán el control de los programas de erradicación intrapredial que indudablemente se implementarán en las granjas de alto nivel de salud, tanto productoras de gordos como de stock de reposición.

El **diagnóstico serológico** de la infección por App, indispensable en los casos de infección crónica subclínica en las granjas, también ha evolucionado favorablemente en los últimos años. La vieja prueba de Fijación de complemento utilizada en los años '70s y '80s va siendo reemplazada por las modernas técnicas de ELISA. En 1995 Gottschalk y cols. informaron la puesta a punto de una técnica de ELISA cuyos antígenos eran **polisacáridos de cadena larga (LC-LPS)** de la pared celular del App serotipo 1 que eliminaba la reacción cruzada con antígenos de *Actinobacillus suis* detectada por otras ELISAs. Informaron una sensibilidad del 81% y una especificidad del 99%. Sucesivamente este grupo de investigadores fueron montando y publicando informes acerca de la elaboración de ELISAs serotipo-específicas para otros serotipos de App. Si bien eliminan las reacciones cruzadas que presentaban las pruebas de ELISA basadas en la detección de anticuerpos contra las toxinas *apxI*, *apxII* y *apxIII* de otros autores, deben realizarse en forma conjunta todos los serotipos en granjas donde se desconoce el serotipo actuante lo que encarece el proceso considerablemente. Estas pruebas de ELISA son comercializadas por el laboratorio canadiense Biovet Inc. habiendo sido utilizadas esporádicamente en Argentina.

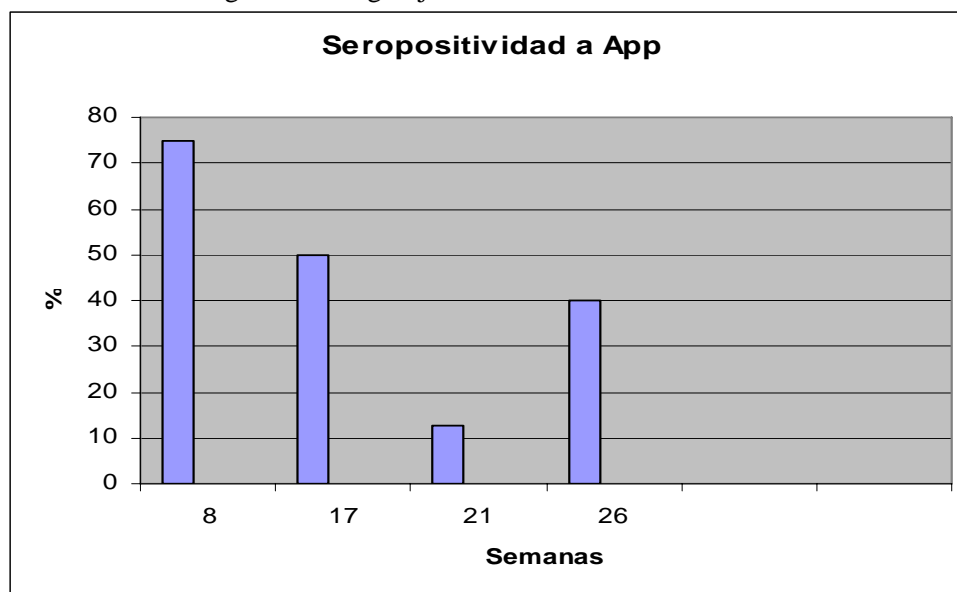
En 2000 Schaller y cols. informan el hallazgo de una nueva toxina elaborada por *Actinobacillus pleuropneumoniae* la **toxina apxIV**, una toxina de la familia de las RTX y que aparentemente era especie específica de App y la bacteria la expresaba “in vivo”. Estas características eran útiles para generar un test para diagnóstico serológico y en 2004 se informó sobre el desarrollo y revalidación de un test de ELISA basado en el **uso de toxina recombinante apxIV** como antígeno (Dreyfus y cols, 2004). Este test tiene la ventaja de ser especie específico, o sea, solo animales infectados con App son reactivos y además detecta anticuerpos generados durante una infección activa a nivel tonsilar. Sin embargo, al parecer no detecta animales que son carriers a nivel nasal, sin colonización tonsilar. Esta prueba está siendo muy utilizada en nuestro medio a los fines de la detección de animales portadores o del screening de cachorras de reposición antes de la entrada a las granjas. Se han detectado distintos tipos de granjas en cuanto a la infección por App y de acuerdo al perfil serológico obtenido con estudios de cohorte transversales. En granjas con infección subclínica, inaparente, el perfil que se obtiene es generalmente el que se observa en el gráfico 1. Un alto nivel de anticuerpos en lechones, que desciende en la recría y desarrollo y que vuelve a ascender en la terminación. Generalmente el pie de cría es positivo.

Grafico 1. Perfil serológico típico de una granja infectada en forma subclínica (estudio de cohorte transversal). Est. A.



En el grafico n° 2 puede apreciarse el perfil de una granja afectada en forma aguda, con un brote de pleuroneumonía clínica en marcha

Grafico 2. Perfil serológico de una granja afectada clínicamente con alta mortandad. Est. B.



Si bien las edades no son estrictamente comparables al tratarse de dos establecimientos diferentes con distinto manejo e instalaciones, en el est. A a las 9 semanas se observa un porcentaje de reactivos descendente significativamente respecto a la medición anterior, sugiriendo que los anticuerpos están decayendo por ser de origen materno. En el est. B por el contrario se observa un alto porcentaje de reactivos a las 9 semanas de vida que

decrece lentamente hasta las 21 semanas, sugiriendo una infección activa que eleva el nivel de anticuerpos generados por el sistema inmune en los animales más jóvenes. Existen autores que consideran que la diferenciación entre anticuerpos maternos y propios se establece luego de la negativización de los animales a las 8-12 semanas y permanencia como negativos durante 4-6 semanas en que se pueden elevar nuevamente producto de infección tal como ocurre en el est. A del gráfico 1.

Los gráficos anteriormente mostrados fueron obtenidos utilizando el test de detección de anticuerpos contra la toxina *apxIV*, que eleva los títulos ante la **replicación tonsilar**. La utilización de otros reactivos como aquellos que detectan anticuerpos contra las toxinas *apxI*, *apxII* y *apxIII* puede que den otros perfiles distintos al detectar anticuerpos producto de la infección a **nivel pulmonar**, ya que según Chiers y cols, (2002), no detectan infección del tracto respiratorio superior, siendo por tanto inútiles para detectar infecciones subclínicas en portadores sanos.

Por tanto la forma de encarar el diagnóstico serológico difiere según sea el objetivo del trabajo. En granjas con status de infección desconocido, podría utilizarse el test de ELISA que detecta anticuerpos contra la toxina *apxIV* (Labs. Bommeli, distribuido por Idexx Inc.) a fin de determinar la presencia o no de infección y el probable tiempo en que los animales se infectan. Si la granja es positiva, sería imprescindible chequear los animales positivos por el ELISA serotipo específico (Labs. Biovet, Inc) a fin de determinar el/los serotipos actuantes y evitar la mezcla de serotipos al incorporar animales, que pueda desembocar en un brote clínico de la enfermedad. En caso de no contar con este último, podrían realizarse muestreos tonsilares en frigorífico intentando el aislamiento para una posterior serotipificación o realización de PCR serotipo específico.

Control

Diversas drogas han sido usadas a lo largo del tiempo para el control terapéutico de la infección por App, juntamente con distintos esquemas de administración. Últimamente las drogas más utilizadas en la ración a fin de prevenir brotes en granjas positivas fueron el tilmicosin, el florfenicol y en menor medida la amoxicilina. Los brotes en fase aguda requieren de la administración de drogas inyectables al disminuir el consumo de alimentos, y dentro de las más usadas se encuentra el florfenicol, la penicilina-estreptomocina y a veces la gentamicina.

Un resumen de la sensibilidad antibiótica de una serie de 15 aislamientos de *Actinobacillus pleuropneumoniae* de casos de campo, medida a través del método de la Concentración Inhibitoria Mínima (CIM) según estándares del NCCLS (National Clinical Committee of Laboratory Testings, subcomitee of Veterinary Susceptibility Tests, USA) puede observarse en la Tabla 2.

Tabla 2. Sensibilidad frente a distintos antibióticos de una colección de 15 aislamientos de *Actinobacillus pleuropneumoniae* de casos de campo (INTA Marcos Juárez, 2006)

Antibiótico	Porcentaje de aislamientos		
	Sensible	Intermedio	Resistente
Enrofloxacina	73	13	13
Ceftiofur	100	0	0
Ampicilina	73	7	20
Tilmicosin	93	7	0
Tilosina	13	0	87
Eritromicina	13	20	67
Lincomicina	0	7	93
Spectinomocina	86	14	0
Florfenicol	86	0	14
Gentamicina	100	0	0
Oxitetraciclina	67	0	33
Sulfa-trimetro.	93	7	0

Del cuadro debe destacarse la resistencia encontrada al florfenicol en 2 aislamientos ambos provenientes de establecimientos con problemas agudos de App donde la droga se había utilizado en forma indiscriminada y prolongada. Así mismo debe advertirse la capacidad de generación de resistencia por el organismo, ya que en un establecimiento donde un primer aislamiento resultó ser sensible a la oxitetraciclina, luego de un par de meses de administración de la droga en ración a razón de 1500 grs/ton, un segundo aislamiento resultó resistente. Obviamente debiera descartarse que se trata de un organismo de la misma progenie y no una nueva entrada de la infección al establecimiento.

REFERENCIAS

- ANGEN O., HEEGAARD PMH., LAVRITSEN DT., SORENSEN V. (2001) Isolation of *Actinobacillus pleuropneumoniae* serotype 2 by immunomagnetic separation. *Vet. Micro.* 79:19-29.
- CHIERS K., DONNÉ E., VAN OVERBEKE I., DUCATELLE R., HAESBROUCK F. (2002) *Actinobacillus pleuropneumoniae* infections in closed swine herds: infection patterns and serological profiles. *Vet. Micro.* 85:343-352.
- DI COLA G., TROTTI N., GIRAUDO J., ZIELINSKI G. (2003) Primer aislamiento de *Actinobacillus suis* de un establecimiento porcino de la provincia de Córdoba. *Memorias. VII Congreso Nacional de Producción Porcina. Río Cuarto 9-11 Octubre.*
- FITTIPALDI N., BROES A., HAREL J., KOBISCH M., GOTTSCHALK M. (2003) Evaluation and field validation of PCR test for detection of *Actinobacillus pleuropneumoniae* in subclinically infected pigs. *J. Clin. Micro.* 41:5085-5093.
- GRAM T., AHRENS P. (1998). Improved diagnostic PCR assay for *Actinobacillus pleuropneumoniae* based on the nucleotide sequence of an outer membrane lipoprotein. *J. Clin. Micro.* 36:443-448.
- GRAM T., AHRENS P., ANDREASEN M., NIELSEN JP. (2000) An *Actinobacillus pleuropneumoniae* PCR typing system based on the *apx* and *omlA* genes- evaluation of isolates from lungs and tonsils of pigs. *Vet. Micro.* 75:43-57.
- JESSING S., ANGEN O., INZANA TJ. (2003) Evaluation of a multiplex PCR test for simultaneous identification and serotyping of *Actinobacillus pleuropneumoniae* serotypes 2, 5 and 6. *J. Clin. Micro.* 41:4095-4100.
- KRISTENSEN CS., ANGEN O., ANDREASEN M., TAKAI H., NIELSEN JP., JORSAL SE. (2004). Demonstration of airborne transmission of *Actinobacillus pleuropneumoniae* serotype 2 between simulated pig units located at close range. *Vet. Micro.* 98:243-249.
- MOREDO F., ZIELINSKI G., GOTTSCHALK M., PERFUMO C. (1999) Aislamiento e identificación de *Actinobacillus pleuropneumoniae* serovar 7 de cerdos con pleuroneumonía en la República Argentina. *Proceedings. XXI Congreso Chileno de Microbiología. Valdivia, Chile, pp12, 1999.*
- PERFUMO C.J., MENENDEZ N.A., PETRUCCELLI H.A., IDIART J.R. PONS E. (1981) Pleuroneumonía del cerdo producida por *Haemophilus pleuropneumoniae*. II. Reproducción experimental. *Revista de Medicina Veterinaria* 62,89-108.
- PERRY MB., MAC LEAN LL., VINOAGADOV E. (2005) Structural characterization of the antigenic capsular polysaccharides and lipopolysaccharide O-chain produced by *Actinobacillus pleuropneumoniae* serotype 15. *Biochemistry and Cell Biology* 83:61-69.
- SCHALLER A., DJORDJEVIC SP., EAMENS GJ., FORBES WA., KUHN R., KUNHERT P., GOTTSCHALK M., NICOLET J., FREY J. (2001) Identification and detection of *Actinobacillus pleuropneumoniae* by PCR based on the gene *apxIVA*. *Vet. Micro.* 79:47-62.
- VENA M.M. (1990) Enfermedades respiratorias del cerdo. *Memorias. VI Jornadas de Actualización Porcina. Univ. Nac. de Río Cuarto, Río Cuarto, Argentina, 13 to 15 September 1990.*
- VENA M.M., MIQUET J., MITTAL K. (1997) *Actinobacillus pleuropneumoniae* serotipo 12 asociado a un brote de pleuroneumonía porcina en Argentina. *Memorias. VII Congreso Latinoamericano de Veterinarios Especialistas en Producción Porcina. Río Cuarto, Argentina, 5 to 8 October, 1997. p 40.*
- VIGRE H., ANGEN O., BARFOD K., LAVRITSEN D., SORENSEN V. (2002) Transmission of *Actinobacillus pleuropneumoniae* in pigs under field-like conditions: emphasis on tonsillar colonisation and passively acquired colostral antibodies. *Vet. Micro.* 89:151-159.
- VIGRE H., ERSBOLL AK., SORENSEN V. (2003) Decay of acquired colostral antibodies to *Actinobacillus pleuropneumoniae* in pigs. *J. Vet. Med. B* 50:430-435.
- ZIELINSKI G.C., CARRANZA A., AMBROGI A., GOTTSCHALK M. (2005) Detection of *Actinobacillus pleuropneumoniae* serotype 15 in Argentina. *Vet. Record*, (enviado a publicación, 2006).
- ZIELINSKI G.C., PISCITELLI H.G., BLACKALL P.G. (1996) *Actinobacillus pleuropneumoniae* serotipo 8: un nuevo serovar para Argentina. *Therios*, 25, 22-27.

[Volver a: V° Congreso](#)