

# DIAGNÓSTICO: NO TODO LO QUE BRILLA ES ORO: LA BACTERIOLOGÍA

**Marcelo Gottschalk, DMV, PhD**  
**Director**

Grupo de Investigación en Enfermedades Infecciosas del Cerdo (GREMIP)  
Centro de Investigación en Infecciología Porcina (CRIP)  
Faculté de médecine vétérinaire, Université de Montréal

Como todo en biología, el diagnóstico de enfermedades infecciosas no es infalible. Muchas veces, existe un cortocircuito entre el veterinario clínico que trabaja en el campo y el laboratorista que efectúa los análisis. El único modo de reducir las diferencias entre las dos especialidades es trabajar juntos. Para esto, el clínico debe saber como trabaja el laboratorista, así como los límites, ventajas y desventajas de cada prueba. De modo similar, el laboratorista debe tener conocimientos y datos del terreno, para llegar a un buen diagnóstico. El diagnóstico comienza con la observación y los datos de la granja, toma de muestras, envío de las muestras al laboratorio, solicitud de pruebas, además del envío y análisis de los resultados.

## **1.- La toma de muestras**

La elección y la toma de muestras se basan obviamente en el diagnóstico presuntivo. Es importante reconocer que a veces el ojo clínico puede equivocarse y esto no es por falta de conocimiento del veterinario, sino porque algunos cuadros se presentan de modo casi idéntico y no es posible diferenciarlos. Un ejemplo son las infecciones causadas por *S. suis* y *Haemophilus parasuis* (Hps). *S. suis* y HPS son los patógenos bacterianos que causan el mayor porcentaje de muerte en lechones en el mundo. Ambos son también flora normal de las vías respiratorias superiores del cerdo. Las enfermedades más comúnmente asociadas a *S. suis* son: meningitis, septicemia, artritis, endocarditis y neumonía, mientras que HPS está implicado en la enfermedad de Glässer (poliserositis), así como en septicemia, meningitis y neumonía. *S. suis* también puede provocar una típica “enfermedad de Glässer”, indistinguible de HPS. En el caso de *S. suis*, si bien el cerdo es el principal reservorio de la bacteria, otras especies animales pueden resultar infectadas. Entre ellas se encuentra el hombre. Por lo general, las personas afectadas trabajan en contacto con el cerdo, por lo que se la considera una enfermedad profesional. Las infecciones más frecuentes en el hombre son la meningitis (comúnmente la principal secuela es la sordera) y la endocarditis.

De hecho, muchas veces es extremadamente difícil diferenciar clínicamente las infecciones causadas por ambos patógenos. El signo clínico más precoz y constante de la infección es la fiebre de 40-42°C. El periodo de incubación puede ser corto (24h). En consecuencia, en brotes muy agudos el primer signo puede ser la aparición de 2 ó 3 cerdos muertos. Si bien casos de meningitis pueden observarse en ambas infecciones, estas son más constantes en los casos causados por *S. suis*. Los signos clínicos de meningitis evolucionan desde una leve incoordinación, cambio postural y ataxia hasta decúbito lateral con movimientos de pedaleo, convulsiones, opistótonos y nistagmo horizontal. También puede observarse septicemia: orejas y partes distales de las extremidades azules (cianosis). Cuando el curso de la enfermedad no es tan rápido, se observan cojera y entumecimiento de las articulaciones (artritis). Los casos de neumonía son más comunes con la patología presentada por HPS, aunque una vez más, pueden observarse en ambas infecciones. Cuando solamente se observan síntomas respiratorios, es muy común encontrar otros patógenos respiratorios primarios y es difícil saber quien es

el verdadero responsable de la patología. En los casos de *S. suis*, es normal observar secuelas como ceguera o posturas anormales de la cabeza (que a veces se confunde con otitis) en los animales que se han recuperado de la enfermedad nerviosa. Aparte de la afección articular, que es bastante frecuente y se establece progresivamente, los síntomas se presentan de un modo individual característico. De este modo, el productor no advertirá signos predisponentes claros que le proporcionen evidencia de la existencia de un problema colectivo en su granja, como la reducción de consumo de alimento o el aumento de problemas respiratorios.

Otro de los problemas que a veces se presentan para el diagnóstico, en general, es lo que llamo el “efecto congreso”. Cuando los colegas asisten a conferencias que tratan intensivamente la infección causada por un patógeno en particular y cuando estas conferencias se multiplican en el tiempo, hay una tendencia marcada a observar enfermedades causadas por dicho patógeno en el terreno: es una reacción lógica, pero hay que saber que siempre se debe confirmar, ya que nuestro criterio puede estar falseado y dirigido al diagnóstico de la enfermedad que tanto hemos discutido los últimos tiempos... Esto nos pasó en los años 90, cuando describimos todos los serotipos de *S. suis*: tanto hablamos del patógeno, que durante los primeros años, el aislamiento de dicho patógeno aumentó cerca de un 100% en la mayoría de los laboratorios provinciales... no es que hubiera más infecciones causadas por *S. suis*, sino que se buscaba más intensamente y apenas aislado, se le atribuía un rol preponderante en la infección.

Finalmente, es muy importante que el clínico oriente al laboratorista, sin influenciarlo demasiado. Entre el envío de muestras sin datos, y el pedido expreso de confirmar una infección, hay una posición intermedia en la cual se indica el diagnóstico presuntivo, pero se deja abierta la posibilidad de otros agentes causales. Ejemplo: si cada vez que no se aísla un patógeno en un caso de septicemia se considera que es Hps (de difícil aislamiento), sin avisar que las muestras provienen de un animal que fue tratado con antibióticos, el diagnóstico puede ser completamente errado...

## **2.- Conservación y envío de muestras**

Idealmente, las muestras deben ser tomadas de animales vivos, seriamente afectados por la infección. Las muestras deben ser conservadas a baja temperatura y, sobretodo, tener cuidado de no mezclar distintos órganos para evitar la contaminación cruzada. Si tomamos una muestra de intestino y la ponemos en la misma bolsa que el hígado o el bazo, podemos tener un diagnóstico de *Escherichia coli* sistémica que no es otra cosa que la misma *E. coli* del intestino que contaminó la muestra en el envío...

Una pregunta que nos hacen muy seguido es si las muestras deben congelarse o no. En general, salvo algunas excepciones, si se toma más tiempo para enviarlas es recomendable la congelación. Es importante evitar que la muestra se congele y descongele muchas veces. La opción de fijar el órgano en formalina depende si se quiere solo un diagnóstico patológico o ambos, patológico y bacteriológico. En este último caso, se pueden tomar dos muestras, una sumergirla en formalina y la otra guardarla congelada para el diagnóstico bacteriológico.

Para el envío de las muestras, se debe hacer lo más rápido posible. Sin embargo, y si se hace por correo o camión, debe evitarse el enviarlas un jueves o viernes, ya que las muestras quedarán en algún lugar (normalmente sin refrigeración) durante el fin de semana. Se aconseja en esos casos congelar las muestras y mandarlas el lunes.

### **3.- Tipos de diagnóstico**

#### Aislamiento tradicional

Si bien se tiene la tendencia a pensar que el diagnóstico de enfermedades bacterianas se hace siempre con un aislamiento, esto no es necesariamente cierto para muchas enfermedades. Sin embargo, el viejo y tradicional aislamiento bacteriano no ha sido completamente desplazado y tiene todavía un rol crucial en el diagnóstico. Como fue mencionado, es importante asegurarse que el animal no haya sido tratado con antibióticos, ya que en los casos de septicemia, los animales pueden morir de modo “aséptico”. Esto significa que si bien los animales tenían una infección sistémica (*S. suis* por ejemplo), y se les trató con un antibiótico que dio resultado (eliminó la bacteria), la inflamación generalizada provocada por el agente infeccioso fue lo suficientemente importante como para ser la causa de la muerte del animal (exceso de producción de citocinas que provocó una reacción inflamatoria fatal): esas muestras serán seguramente estériles, ya que la bacteria fue eliminada.

#### Detección del antígeno con reactivos inmunológicos

Otro modo de efectuar el diagnóstico es con anticuerpos y un reactivo que da color para identificar la presencia de los patógenos. Este método es muy útil (ejemplo: micoplasma) pero es extremadamente importante utilizarlo con muestras en las cuales hay la presencia de lesiones. El uso de este tipo de reactivos en por ejemplo tonsilas, no es aconsejado, dado la presencia de muchas reacciones cruzadas entre los microorganismos. Además, la presencia de varios patógenos en tonsilas indica que el animal es portador y las lesiones o mortalidad observadas en la granja no son necesariamente causadas por los mismos patógenos detectados en las tonsilas.

#### Detección del ADN bacteriano

Un método similar al inmunológico, aunque basado en la detección del material genético de las bacterias, es el uso de técnicas como el PCR o la hibridación in situ. Estas técnicas detectan la presencia de cantidades muy bajas del patógeno (especialmente la prueba PCR). Son técnicas extremadamente sensibles, lo que tiene varias ventajas: detección rápida de bajo número de bacterias, especificidad (cuando ha sido bien validado), detección de la bacteria aunque esté muerta o destruida, etc. Sin embargo, estas ventajas pueden transformarse en desventajas: la sensibilidad elevada puede provocar la detección de un número muy reducido de bacterias: en el caso que una infección sea provocada por una bacteria “A”, y que al mismo tiempo se encuentre infectado por un muy bajo número de la bacteria “B”, si se aplica solo una prueba PCR para la bacteria “B”, el resultado será positivo, pero eso no indica que sea la responsable de la infección. Los diagnósticos de PCR “tiempo real” que pueden cuantificar la cantidad de bacterias no son utilizados todavía de rutina. Mismo problema que con el diagnóstico inmunológico, es peligroso (a veces necesario) efectuar el diagnóstico en tonsilas, ya que se detectan animales portadores mas que animales enfermos.

## La serología

La serología es muy popular y un buen modo de diagnóstico, especialmente de enfermedades de diagnóstico directo difícil (aislamiento, ejemplo: *Lawsonia intracellularis*, agente de ileitis), y también muy útil en casos de enfermedades que causan infecciones sub-clínicas difíciles a diagnosticar. El veterinario clínico debe saber que un diagnóstico serológico positivo significa en la mayoría de los casos que “el animal tuvo contacto con el patógeno al menos 3 ó 4 semanas antes del momento de tomar la muestra”. Es un diagnóstico directo llamado “indirecto”, ya que no se detecta al patógeno sino a la respuesta inmunológica que los animales han tenido frente al contacto con el patógeno.

En general, la serología en bacteriología es muy difícil, ya que muchas pruebas serológicas presentan reacciones cruzadas. Las pruebas serológicas virales son más simples, ya que los virus tienen muchos menos antígenos que las bacterias. Con estas últimas, es mucho más común encontrar reacciones cruzadas. Existen algunas pruebas que son comercializadas y otras que son caseras. La prueba ELISA es la más popular. Es importante tener la información sobre la sensibilidad y especificidad de todas estas pruebas. Es importante también diferenciar la serología de población de la serología individual: cuando un resultado positivo es confirmado, TODOS los animales del sitio deben considerarse como infectados, tengan resultados positivos o negativos de modo individual. Algunos animales pueden estar infectados sin tener títulos serológicos.

Un buen ejemplo de la utilización de la serología es la pleuroneumonía porcina causada por *Actinobacillus pleuropneumoniae* o *App*. El mejor modo de controlar la infección sub-clínica o crónica es por serología, es decir, mediante la detección de anticuerpos. Como se mencionó, este es un diagnóstico indirecto, debido a que se detecta la respuesta inmunológica de los animales frente a una infección pasada. Es por eso que la prueba utilizada debe poseer muy buena sensibilidad y especificidad, pues no hay que olvidar que el diagnóstico se hace en granjas donde no se observa ningún problema que pueda hacer pensar que el *App* está presente. En estos momentos existen en el mercado kits de diagnóstico serológico para *App*., que fueron desarrollados en Canadá, España, México y Suiza, con variable sensibilidad y especificidad. No existen verdaderos estudios que hayan comparado todos estos kits, por lo que es difícil tomar una posición firme en cuanto a su utilización.

De los kits mencionados, el kit desarrollado en Canadá es uno de las pruebas para la cual se conoce con más detalles los alcances de su utilidad. Esta prueba está basada en la pared de la bacteria y reconoce los grandes grupos serológicos. Es decir, es específica de serotipo. La ventaja es que se utiliza con el serotipo que se sospecha y es específica para dicho serotipo. La desventaja es que cuando no se sabe el serotipo que causa el problema, hay que testear contra los más comunes, lo que aumenta los gastos para el productor. El segundo tipo de kit, es el desarrollado en Suiza y comercializado actualmente por la compañía IDEXX. Este kit detecta anticuerpos contra la toxina ApxIV. Esta toxina es producida sola y únicamente por *App*., no por alguna otra especie bacteriana y solamente cuando la bacteria está viva en el animal. El inconveniente de este kit, es que no diferencia entre los serotipos. Muchas granjas están infectadas por varios serotipos de *App*., la mayoría de los cuales no son patógenos. Estas granjas darán resultados positivos, y no se podrá diferenciar de otra granja que esté infectada con un serotipo muy patógeno. En otras palabras, este test podría ser utilizado en granjas de muy alto nivel sanitario y que no están infectadas con ningún serotipo de *App*., aunque la especificidad en dichas granjas todavía

debe ser demostrada. En nuestra experiencia, muchas veces se obtienen resultados falsos positivos en granjas negativas a todos los serotipos de *App*.

La serología puede utilizarse, por ejemplo, en las siguientes situaciones: 1) confirmación de una infección crónica, de la cual se sospecha luego de verificación de lesiones pulmonares; 2) Estudio de la cinética de anticuerpos en una granja infectada, para establecer un programa de vacunación o de medicación por vía oral; 3) Identificación de maternidades infectadas en el caso de compra de lechones de diferentes orígenes para sistemas de tipo “todo adentro, todo afuera”. Este punto es importante, ya que se debe tomar una decisión en cuanto a la categoría de animales que van a ser muestreados. Los animales adultos (madres) presentan en general una infección de baja prevalencia, con bajos títulos de anticuerpos. Dado que ciertas reacciones no-específicas pueden ocasionalmente encontrarse en este grupo de animales, la interpretación de bajos valores serológicos es muchas veces difícil. Si se desea muestrear los lechones al destete, el número de animales a testear debe ser elevado, ya que la seroconversión puede observarse solo a partir de las 8 semanas de vida, momento en el cual los animales van a ser introducidos en el engorde (si no se efectúa un destete precoz); 4) Intentos de erradicación; 5) Verificación de la respuesta de anticuerpos frente a una vacunación.

#### **4.- Conclusión**

El diagnóstico de enfermedades bacterianas se ha transformado en un diagnóstico mucho más completo con el paso del tiempo. Al mismo tiempo se ha transformado en un diagnóstico mucho más complejo, lo que requiere un buen manejo de las ventajas y desventajas de cada método. Pero lo más importante y lo que no puede ser reemplazado, es el contacto constante que el veterinario clínico y el veterinario laboratorista deben tener. Esto es el arma más importante para llegar a un diagnóstico certero.