

## PRUEBAS DE DIAGNÓSTICO PARA ENFERMEDADES GASTROINTESTINALES DEL CERDO DISPONIBLES EN MÉXICO

**Enrique Corona Barrera MVZ, PhD.**  
**CIR, Biomédicas**  
**Universidad Autónoma de Yucatán**  
[enrique.corona@uady.mx](mailto:enrique.corona@uady.mx)

Presentar un trabajo sobre enfermedades entéricas de cerdos en un congreso de especialistas es una ventaja debido a que las enfermedades que afectan al cerdo son conocidas en el gremio veterinario. Es estimulante escribir sobre enteropatógenos, ya que hay información generada constantemente como resultado de investigaciones en las que se descubren detalles que ayudan a entender tanto la epidemiología como la patología. Es importante resaltar que el estudio de las enfermedades entéricas ha dejado claro que, la etiología puede darse por dos e incluso tres patógenos a la vez, lo cual hace la epidemiología más compleja. La información reciente presentada en los foros de investigación a nivel nacional e internacional aborda estudios en los que se contemplan infecciones por espiroquetas intestinales, *Lawsonia intracellularis*, *Salmonella*, *E coli* y su interacción con parásitos y muy importante, recientemente ha despertado interés la composición de la dieta como factor modulante en la composición de la microbiota intestinal y su papel en la patogénesis del complejo entérico.

Las enfermedades en explotaciones porcinas son una batalla de día a día, las cuales requieren atención sea en diagnóstico, tratamiento, prevención o erradicación. Sea cual sea la necesidad de atención, crea un problema a resolver que en algunos casos no se logra, debido por un lado a la falta de entendimiento por completo de la epidemiología de las enfermedades infecciosas y por otro, a la falta de recursos técnicos-metodológicos para resolver esas problemáticas.

El desarrollo tecnológico para abordar problemáticas de diagnóstico y tratamiento de enfermedades infecciosas lleva cierto tiempo en el cual se realiza la investigación correspondiente para entonces lograr su aplicación. Recursos económicos aplicados al desarrollo tecnológico en los que participan estudiantes (futuros recursos humanos) tienen como producto generar técnicos capacitados para resolver problemas.

En el contexto del diagnóstico de enfermedades infecciosas se involucran aspectos técnicos que en países en desarrollo como México no se tienen completamente resueltos, ya que en ocasiones uno y otro reactivo químico o biológico se debe adquirir-importar, lo cual genera una dependencia y por tanto, los sistemas de diagnóstico adolecen de debilidades tanto técnicas como de recursos, ya que adquirir-importar los insumos para investigación resulta muy costoso. Por lo anterior debe entenderse que existe un sub-diagnóstico en medicina veterinaria debido a los “altos costos” para desarrollar o aplicar pruebas de diagnóstico, lo cual genera una situación que limita el estudio de las enfermedades infecciosas. En el caso de enfermedades intestinales del cerdo como espiroquetosis intestinales (*B. hyodysenteriae*; *B. pilosicoli*) o enteropatía proliferativa (*L. intracellularis*) no se tiene un vasto conocimiento a la fecha y varias de las preguntas no se logran contestar aún.

Sin embargo hay interés por estudiar las enfermedades infecciosas en el gremio veterinario de México. Por ejemplo, en el programa de AMVEC 1994 apareció un trabajo sobre *L. intracellularis* (antes *Illealsymbiont intracellularis*) intitolado: “Control de ileitis” del ponente Roy Schultz. El punto importante a resaltar es el interés por controlar esa enfermedad desde aquel entonces y es de entenderse que mediante técnicas y metodologías de diagnóstico

disponibles en esos tiempos. Posteriormente en el programa de la IPVS 2002, celebrado en Iowa, EUA, aparece otro trabajo intitulado: “Attempt to eradicate *Lawsonia intracellularis* by medication in 9 sow herds, preliminary results” por Johansen, M., et al., en el que se menciona un periodo de seguimiento mínimo de 15 y máximo de 30 meses. Tomando ese caso como ejemplo, es importante mencionar que para realizar un estudio de este tipo se debe considerar una metodología de diagnóstico de laboratorio y por ende el alcance se limita a lo disponible en pruebas diagnósticas en la zona, región a país y consecuentemente cómo organizar el trabajo de acuerdo a las circunstancias, en el caso anterior la metodología de diagnóstico usada fue PCR (*polymerase chain reaction*) e IFAT (*immunofluorescence antibody test*).

Conforme las técnicas de detección directas (antígeno) e indirectas (anticuerpos) se desarrollan generan conocimiento que contribuye al entendimiento de la epidemiología de enfermedades infecciosas. Es importante hacer claro que para lograr ese conocimiento es necesario entender que el trabajo de campo y el de laboratorio son complementarios y como lo menciona Marcelo Gottschalk (AMVEC 2006) es importante conocer el trabajo de cada uno de los involucrados para entender las necesidades y hacer la interacción más satisfactoria para lograr avanzar eficientemente tanto en recursos, como trabajo y tiempo.

Abordar la temática de diagnóstico implica comprender lo que se busca o lo que se investiga para entonces iniciar el proceso, ya que las muestras a tomar deben satisfacer las necesidades del laboratorio de acuerdo a la técnica o prueba a usar. Por ejemplo, si el laboratorio practica pruebas serológicas, quizá no sea tan complicado obtener muestras de sangre, sin embargo sería conveniente separar el suero el mismo día de la colección de sangre y enviarlo así al laboratorio, ya que eso tiene ventajas sobre el envío de sangre completa. Sin embargo el técnico que toma la muestra de sangre podría carecer de experiencia para separar el suero o no contar con el equipo necesario para hacerlo como contar con una centrifuga o tener varias agujas y jeringas, pipetas tipo Pasteur y tubos (viales), pareciera sencillo pero en la práctica puede no serlo, particularmente en los casos en los que hay carencia de materiales (insumos) para llevar a cabo investigaciones sistemáticas. Mi experiencia profesional en la toma de muestras sangre y separación de suero entendí que contar con los materiales adecuados para el trabajo ayuda a solucionar los imprevistos de manera más satisfactoria, logrando entonces la interacción (mencionada arriba) entre el técnico de campo y el de laboratorio. Tomar muestras para aislamiento bacteriológico de enteropatógenos tampoco podría ser complicado, sin embargo no contar con un protocolo en el que se indique las características de la muestra a coleccionar o desconocer el trabajo de laboratorio para ciertos microorganismos son circunstancias que influyen en los resultados. En el caso de enteropatógenos fastidiosos como espiroquetas intestinales (anaerobios) o *Campylobacter* (microaerofílico) se requiere que las muestras lleguen al laboratorio en un periodo no mayor de 24 hrs después de ser tomadas, ya que la viabilidad de estos microorganismos disminuye, lo cual no es tan estricto en otros como *E. coli* o *Salmonella*. De igual manera la colecta de muestras de tejido sea para histopatología, hibridación *in situ*, extracción de ADN, microscopía electrónica, preservación (ultracongelación) del agente patógeno por u otro proceso tiene sus particularidades, ya que el pre-tratamiento y manejo de muestras va acorde a la técnica o estudio a practicar. En los casos anteriores es más importante conocer las necesidades de la técnica o proceso a practicar y la comunicación entre los técnicos de laboratorio y los de campo es necesaria. Por ejemplo, fijar tejido para microscopía electrónica requiere una solución amortiguadora y glutaraldehído, la cual puede ser proporcionada por el laboratorio. Además que la preservación de tejido para técnicas sobre algunos microorganismos como *L. intracellularis* requiere congelación inmediata para lo cual se requiere sea nitrógeno líquido o hielo seco que

no son disponibles en todos lados, de ahí que la preparación de material y la logística de muestreo jueguen un papel importante. La preparación de material es un punto que requiere atención, ya que al encontrarse en las granjas sin el material suficiente y adecuado puede resultar insatisfactorio tanto para el laboratorio como para el técnico además puede ocasionar malos entendidos entre la gente y frustración. También es importante que exista comunicación para el envío de muestras para programar actividades en el laboratorio, ya que para el caso de estudios epidemiológicos las muestras son trabajadas por muestreo y no de forma aislada. No está por demás mencionar que la cantidad de material de laboratorio y lo necesario para muestrear (tubos, bolsas, hisopos, congelantes, cinta adhesiva tipo *masking tape*, marcadores y material de disección para necropsias) merece una consideración para obtener resultados satisfactorios.

Contemplando que lo que se busca es obtener resultados satisfactorios a través de la comunicación entre los participantes, las muestras entonces podrían recibir un tratamiento previo al llegar al laboratorio (aprovechando las horas que lleva la transportación) como uso de antimicrobianos para reducir el crecimiento de microorganismos indeseables o sembrar (bacteriología) y colocar en anaerobiosis (espiroquetas intestinales) en la misma granja. Para lograr lo anterior debe necesariamente haber un periodo de entrenamiento para entender las necesidades y lograr la complementación.

Para el diagnóstico de enfermedades infecciosas por enteropatógenos se cuenta con herramientas de bacteriología o cultivo celular (*L. intracellularis*), serología y técnicas moleculares. El necesario entender qué es lo que se busca con cada técnica y la información que se genera para entender la utilidad de los resultados de laboratorio. Contar con aislados de los agentes permite conocer su perfil bioquímico, sensibilidad a antimicrobianos y aplicar técnicas de inmunodiagnóstico, claro es que hay algunos de los reactivos biológicos correspondientes no se encuentran disponibles comercialmente, por ejemplo, anticuerpos para *L. intracellularis* (inmunohistoquímica), los reactivos disponibles son de proyectos de investigación. En México no existe a la fecha el sistema de aislamiento (cultivo celular) para *L. intracellularis* y los estudios realizados se han hecho mediante detección de anticuerpos. Sin embargo recientemente (AMVEC 2007) se presentó un trabajo en el que se habla de la detección de antígeno en cortes histológicos teñidos con plata (Quintero V., et al), lo cual es un avance en las metodologías aplicadas a enteropatógenos. Para el caso de Salmonella, aislamiento e identificación por pruebas bioquímicas y serotipificación es una metodología disponible en México para la que existe disponibilidad comercial de reactivos y técnicos experimentados. Para el caso de espiroquetas intestinales, aislamiento e identificación por pruebas bioquímicas y moleculares está disponible en México pero limitado solo a un laboratorio en el país, sin embargo la implementación de metodologías aplicadas a estos enteropatógenos fue parte de los objetivos de un proyecto de investigación en el que se ha procurado generar recursos humanos, los cuales se espera contribuyan a ampliar esta área de trabajo. Es importante tener en cuenta que en el complejo entérico porcino pueden ocurrir infecciones mixtas que requieren pruebas de laboratorio complementarias que permitan la identificación de los agente involucrados sea por aislamiento, detección de antígeno en cortes histológicos y tinciones especiales o pruebas moleculares.

Es importante mencionar que el área de enteropatógenos del complejo entérico porcino en México es joven desde la perspectiva de que no se cuenta con un laboratorio que lleve a cabo un diagnóstico completo y aborde la problemática contemplando infecciones mixtas, sin embargo hay que considerar que implementar todas las pruebas diagnósticas como

aislamiento, identificación fenotípica y molecular, histopatología y tinciones especiales, microscopia electrónica e inmunodiagnóstico lleva tiempo en desarrollar.

La disponibilidad de técnicas de diagnóstico postmortem para patógenos como *L. intracellularis* son una herramienta que permite la identificación de lesiones específicas que junto con técnicas especiales de tinción ej., Warthin Starry se logra la evidencia de del microorganismo. Sin embargo la limitante es que bajo estas circunstancias no es posible conocer la dinámica de infección en la población de una granja, dada por los niveles de excreción e infectividad del microorganismo.

**Cuadro 1. Estudios realizados sobre enteropatógenos en varios países.**

Región/país	Agente etiológico	Pba Diagnóstica	Prevalencia	Referencia
<b>Escandinavia</b>				
Dinamarca	<i>L. Intracellularis</i>	Histopatología	72.3 % (73/101)  76.0 % (38/50) colitis por Li  Intestinos colectados en matadero	Jensen, T. (2002) Proceedings 17 <sup>th</sup> IPVS Ames, Iowa USA.
Dinamarca	<i>L. intracellularis</i>	PCR, IFAT		Johansen, M., et al., (2002). Proceedings 17 <sup>th</sup> IPVS Ames, Iowa USA.
<b>Latinoamérica</b>				
“Brasil”	<i>L. intracellularis</i>	IFAT	96.3 % (105/109) granjas  22.1 % (530/2398) animales	Ristow, L., et al., (2002). Proceedings 17 <sup>th</sup> IPVS Ames, Iowa USA.
Argentina	<i>L. intracellularis</i>	IFAT	68.2 % (15/22)	Machuca M., et al., (2002). Proceedings 17 <sup>th</sup> IPVS Ames, Iowa USA.
México	<i>Salmonella cholerasuis</i>	Aglutinación en placa  PAL (aglutinación lenta) en microplaca, detecta IgG e IgM  PAL 2ME (aglutinación lenta 2 mercaptoetanol) en microplaca, detecta IgG	59.8 % (506/846) animales	Cibrian, A., et al., (2005). Memorias XL AMVEC, Leon, Gto., México

	<i>L. intracellularis</i>	IFAT	88.0 % (38/88) granjas	Angulo, J. y Díaz, E. (2005). Memorias XL AMVEC, Leon, Gto., México
	<i>L. intracellularis</i>	IFAT	98.2 % (54/55) granjas 36.4 % (858/2356) animals	Carvajal, M., et al., (2006). Memorias XLI AMVEC, Leon, Gto., México
	Espiroquetas intestinales	Aislamiento	Aislamiento de EI género <i>Brachyspira</i> en Edo. Méx.	Corona, E. et al., (2006). Memorias XLI AMVEC, Leon, Gto., México
	Espiroquetas intestinales	Aislamiento, identificación bioquímica	Aislamiento de EI género <i>Brachyspira</i> , granjas en Sonora	Munguía, J., et al., (2007). Memorias XLII AMVEC, Querétaro, Qro., México
	Espiroquetas intestinales	Aislamientos subsecuentes, granjas cerdos	Aislamiento de EI género <i>Brachyspira</i> ( <i>B. pilosicoli</i> )	Corona-Barrera, E., et al., (2007). Proceedings IV Int. Res. Meet. IS, Prague, Cz Rep.
	Espiroquetas intestinales	Aislamiento, identificación bioquímica, PCR	Aislamiento de EI género <i>Brachyspira</i> ( <i>B. pilosicoli</i> ) en cerdos, aves y perro	Corona, E., et al., (2007). Memorias V Cong. Int. AMEV, Villahermosa, Tab., México
	<i>L. intracellularis</i>	Tinción plata Wrthin Starry	Identificación organismo en tejido	Quintero, V., et al., (2007). Memorias XLII AMVEC, Querétaro, Qro., México
	Espiroquetas intestinales + <i>Salmonella</i> + Hongos levaduriformes	Aislamiento, identificación bioquímica, PCR	17.9 % (12/67) granjas Aislamiento e identificación ( <i>B. pilosicoli</i> ), granjas Norte, Centro y Sur de México	Corona, E., et al., (2008).
Venezuela	<i>L. intracellularis</i>	IFAT	100 % (4/4) granjas	Del Castillo, S., et al., (2006). Proceedings 19 <sup>th</sup> IPVS, Copenhagen, Denmark

Canada y EUA				
Canada	<i>Salmonella</i>	ELISA  Cultivo (heces)	12.0 % (191/1334)  14.3 % (321/2663)	Rajic, A., et al., (2002). Proceedings 17 <sup>th</sup> IPVS Ames, Iowa USA.
Europa				
Polonia-Lituania	<i>L. intracellularis</i>	PCR anidado	Optimización (investigación)	Pejsak, Z., (2001). Proceedings X WAVLD Salssomagiore, Parma, Italy
España	<i>L. intracellularis</i>	IFAT	82.6 % (2370 muestras de suero)	Prieto, C., et al., (2002). Proceedings 17 <sup>th</sup> IPVS Ames, Iowa USA
	<i>L. intracellularis</i>	IFAT	56.7 % (17/30) granjas en 2000  62.5 % (15/24) granjas en 2001	Corral, A y Valiente, N (2002). Proceedings 17 <sup>th</sup> IPVS Ames, Iowa USA
	<i>Salmonella</i>	Aislamiento y serotipificación	31.0 % (26/84)  S. typhimurium 24.1 % S. muenchen 13.8 % <i>Salmonella</i> spp 10.3 %  39 aislados, hasta 3 serovariedades en misma granja	Vidal, A., et al., (2002). Proceedings 17 <sup>th</sup> IPVS Ames, Iowa USA
Francia	<i>Salmonella</i>	Aislamiento y serología	20.6 % granjas con portadores (n= 20 granjas)  15.9 % serología positiva (n= 20 granjas)	Dubroca, S., et al., (2006). Proceedings 19 <sup>th</sup> IPVS, Copenhagen, Denmark
Italia	Complejo entérico: espiroquetas intestinales, <i>L. intracellularis</i> <i>Salmonella</i>	EI: aislamiento, bioquímicas, PCR  <i>Salmonella</i> : aislamiento, bioquímicas (API)  <i>Lawsonia</i> : ??	Coinfección: EI + <i>L. intracellularis</i> en 3 granjas;  <i>Lawsonia</i> + <i>Salmonella</i> en 3 granjas;  EI + <i>L. intracellularis</i> + <i>Salmonella</i> en 1 granja.  N= 20 granjas, en 16	Magistrali, C., et al., (2002). Proceedings 17 <sup>th</sup> IPVS Ames, Iowa USA

			granjas al menos 1 patógeno	
Grecia	EP DP	Necropsia: pbas lab ??	Mortalidad: 57.4 % (70/122) EP  22.1 % (27/122) DP	Balkamos, G., et al., (2002). Proceedings 17 <sup>th</sup> IPVS Ames, Iowa USA
	Enfs entéricas	Necropsia: pbas lab ??	Mortalidad 31.2 % (285/833)	Tzika, E., et al., (2002). Proceedings 17 <sup>th</sup> IPVS Ames, Iowa USA
Hungria	<i>L. intracellularis</i>	IFAT	89.4 % (42/47) granjas  36.4 % (301/826) animales	Biksi, I., et al., (2002). Proceedings 17 <sup>th</sup> IPVS Ames, Iowa USA
Polonia-Lituania	<i>L. intracellularis</i>	PCR anidado	Optimización (investigación)	Pejsak, Z., (2001). Proceedings X WAVLD Salssomagiore, Parma, Italy
Alemania	<i>L. intracellularis</i>	ELISA	77.5 % (62/80) granjas	Henke, N. y Blaha, T. (2006). Proceedings 19 <sup>th</sup> IPVS, Copenhagen, Denmark
EUROPA	<i>L. intracellularis</i>	ELISA	Suiza, Grecia, Italia, Dinamarca, Rep. Checa 100 %  España 92.0 % Holanda 88.0 % Francia 92.0 % Alem. 94.0 % Portugal 88.0 % RU 90.0 % Bélgica 91.0 %  Europa 93.0 %  Cerdos de producción	Hardge, T., et al., (2006). Proceedings 19 <sup>th</sup> IPVS, Copenhagen, Denmark
<b>Asia</b>				
Filipinas	<i>L. intracellularis</i>	ELISA	81.0 % ♀ (n= 30 granjas)	Bulay, A., et al., (2006). Proceedings 19 <sup>th</sup> IPVS, Copenhagen, Denmark
	<i>Salmonella</i>	PCR	56.0 % (31/55) granjas	Bulay, A., et al., (2006).

			28.0 % (93/330) muestras tejido	Proceedings 19 <sup>th</sup> IPVS, Copenhagen, Denmark
China (Sur)	<i>L. intracellularis</i>	ELISA	100 % (n= 33 granjas)  50.0-100 % ♀  90.0 % cerdos en producción	
China	<i>L. intracellularis</i>	PCR	71.0 % (12/17) granjas	Deng, X. (2006). Proceedings 19 <sup>th</sup> IPVS, Copenhagen, Denmark
Korea (Sur)	<i>L. intracellularis</i>	ELISA	100 % (47/47) granjas	Kim, J., (2006). Proceedings 19 <sup>th</sup> IPVS, Copenhagen, Denmark
	<i>Salmonella</i>	ELISA	38.1 % (607/1592) animales	Lim, H., et al., (2006). Proceedings 19 <sup>th</sup> IPVS, Copenhagen, Denmark



**Cuadro 2. Disponibilidad de pruebas diagnósticas en México para enteropatógenos.**

Agente	Prueba	Muestra	Comercial/Investigación	Lugar
<i>Salmonella</i>	Detección Sistemática Confiable de Salmonelosis  El kit para detección de <i>Salmonella</i> porcina HerdChek* de IDEXX es un enzimoimmunoanálisis para la detección de anticuerpos contra <i>Salmonella</i> spp en suero, plasma y jugo de la carne de porcinos.	Suero	C (Idexx)	IASA, Tehuacán
<i>Salmonella</i> <i>Listeria</i> <i>E.coli</i> O157:H7 Enterotoxinas de <i>Staphh. aureus</i> (A, B, C, D, E) <i>Salmonella</i> porcina  <b>Salmonella</b> (PCR-ELISA, PCR Real Time) <i>Listeria</i> (PCR-ELISA, PCR Real Time) <i>Campylobacter</i> (PCR-ELISA, PCR Real Time)	Kits ELISA para análisis microbiológicos  Kits ELISA para enfermedades en Cerdos  Kits PCR Sure Food para patógenos.	Suero	Lesca S.A. de C.V.	
Enteropatógenos?	Estudios Bacteriológicos  Bacteriológicos: Organos		Servicio	Depto Cerdos FMVZ-UNAM
	Identificación de:  Grupo somático para <i>Salmonella</i> spp			
	Estudios Viroológicos  Aislamiento Viral: \$200.00 por agente infeccioso			
	Inmunofluorescencia en cultivo celular  \$100.00 por agente infeccioso			
	ELISA			

	Gastroenteritis transmisible/Coronavirus respiratorio porcino \$65.00			
<i>Salmonella</i> spp.	Diagnóstico molecular (PCR)	Asa intestinal amarrada hisopo en medio de transporte	Servicio-Investigación	Depto Micro e Inmuno FMVZ UNAM
Bacteriología <i>E. coli</i>	Aislamiento			Lapisa
	Microscopía directa, Observación directa			
Espiroquetas intestinales <i>Salmonella</i> , <i>L. intracellularis</i>	Identificación fenotípica y genotípica-PCR, histopatología, inmunohistoquímica- <i>investigación.</i>	Heces, tejido intestinal	Servicio-investigación	CIR, Biomédicas-UADY