

## II. PRESENTE Y FUTURO DEL DIAGNÓSTICO DE LAS ENFERMEDADES ENTÉRICAS DEL CERDO EN MÉXICO

Enrique Corona Barrera MVZ, MSc., PhD.

CIR-Biomédicas Dr. Hideyo Noguchi, Universidad Autónoma de Yucatán, Mérida, Yuc., México  
[enrique.corona@uady.mx](mailto:enrique.corona@uady.mx)

Las enfermedades entéricas del cerdo de etiología infecciosa son causadas por varios agentes dentro de los que se incluyen virus, bacterias y parásitos, a estos microorganismos por encontrarse en el tracto gastro-intestinal se les conoce como enteropatógenos. Dentro de los enteropatógenos del cerdo más relevantes antes del destete se encuentra la gastroenteritis transmisible (GET), *E. coli* enterotoxigénica, *Clostridium perfringens* tipo A y C, *Isospora suis*, *Cryptosporidium* spp y Rotavirus. Y aquellos causan enfermedad después del destete *E. coli* (diarrea postdestete y enfermedad del edema), Salmonella, *Lawsonia intracellularis* y *Brachyspira* spp.

Aunque algunos de estos patógenos han sido estudiado por varios años e incluso décadas (ej., *B. hyodysenteriae*, primer reporte en 1979) aun siguen sorprendiendo a los profesionales de la medicina veterinaria, ya que hay aspectos de la patogénesis que no se entienden o se desconocen.

Las causas de enfermedad pueden ser multifactoriales, por lo que se deben considerar varios aspectos que se interrelacionan para que se presenten enfermedades en las granjas. Para realizar un diagnóstico que nos oriente en el entendimiento del problema es importante tener conocimiento de la ecología del microorganismo en cuestión, así como su epidemiología. Por ejemplo, las infecciones por espiroquetas intestinales o *L. intracellularis* no se observan generalmente en cerdos lactantes y no es de esperar que estos patógenos se encuentren en tejidos fuera del tracto intestinal, y dentro del intestino hay sitios específicos de colonización tanto para EI (colon) como para *L. intracellularis* (íleon). De ahí que sea importante conocer los aspectos epidemiológicos de cada uno para dirigir el diagnóstico hacia una identificación más precisa, sin embargo cerdos con trastornos digestivos pueden estar infectados con uno o varios enteropatógenos a la vez, lo cual requiere de atención en la elección del tipo de muestras y pruebas a realizar. Por ejemplo, para el diagnóstico de *L. intracellularis* se requieren muestras de íleon para observar lesiones características en cortes histológicos o detección del agente por inmunohistoquímica, y para PCR la misma muestra de tejido puede ser suficiente para extraer ADN o extraerlo de heces, es importante considerar que las pruebas son complementarias. Sin embargo no hay un laboratorio disponible en México que realice un diagnóstico exhaustivo de *L. intracellularis*, ya que por ejemplo la prueba de inmunohistoquímica que se aplica a nivel investigación utiliza anticuerpos (usualmente monoclonales) que no se encuentran comercialmente, de ahí se entiende la limitante para la no disponibilidad de la prueba en cualquier laboratorio de diagnóstico de enfermedades del cerdo. También es importante mencionar que la técnica de PCR para *Lawsonia* no se encuentra disponible en laboratorios de diagnóstico en México. Lo anterior es necesario que lo conozca el médico veterinario especialista en cerdos para saber qué hacer o solicitar asesoría con colegas que desarrollan sus actividades en diagnóstico. El manejo y preservación de muestras de tejido intestinal tiene su grado de cuidado también, ya que aunque las muestras sean representativas de animales con signos clínicos, puede darse el caso que no se logre observar lo que se busca debido a que no se procuró una adecuada presentación del tejido, muestras de difícil lectura debido a dobleces o con pérdida de estructura, por tanto, imposible precisar el diagnóstico.

Las necesidades de diagnóstico demandan el desarrollo de herramientas (entiéndase técnicas) para cubrir esas necesidades y responder a las preguntas que surgen conforme se logran avances o se y se presentan problemáticas a resolver. Por ejemplo, se han documentado los casos de infecciones mixtas (Corona-Barrera 2002). Esa situación ha generado el desarrollo de estrategias de diagnóstico molecular (basado en PCR) para identificar o detectar a más de un patógeno como sería un Dúplex PCR o Múltiplex PCR, particularmente para la combinación Salmonella, *L. intracellularis* y espiroquetas intestinales-*Brachyspira*. Para el caso de PCR Dúplex se han diseñado iniciadores de PCR para detectar o diferenciar a dos especies de espiroquetas intestinales, *B. hyodysenteriae* y *B. pilosicoli* (Leser *et al.*, 1997) o *B. pilosicoli* y *B. intermedia* (Phillips *et al.*, 2006, más usado en casos de enfermedades entéricas de aves) y para el caso de Múltiplex PCR para la detección de Salmonella spp, *L. intracellularis* y *B. hyodysenteriae* (Elder *et al.*, 2007).

En México, los estudios de diagnóstico de los enteropatógenos “recientes” (*Brachyspira*, *Lawsonia*), o aquellos del complejo entérico (Salmonella, *Lawsonia*, *Brachyspira*) son pocos, por lo que no se cuenta con suficientes datos para hacer un análisis robusto. Sin embargo, es importante mencionar que se está trabajando en el desarrollo de la línea de investigación que tiene como finalidad generar información para conocer mejor la epidemiología de enteropatógenos y realizar evaluación de granjas mediante muestreos periódicos. En contraste, en países como la República Checa, Suecia, Dinamarca, Reino Unido o Australia, hay avances sustanciales en el conocimiento de enteropatógenos, sin embargo hay aspectos que no se entienden aun a pesar del conocimiento que se tiene. Por ejemplo, las experiencias de diagnóstico de *B. hyodysenteriae* en el Reino Unido tanto cultivo como PCR (por más de 10 años) han puesto en apuros a laboratorios de servicio como el *Veterinary Science Division* del *Scottish Agricultural College-VSD-SAC*, debido a que recientemente se han encontrado en granjas cerdos positivos a *B. hyodysenteriae* (aislamiento y PCR) sin signos clínicos de disentería porcina (DP). Lo anterior genera confusión, ya que ese aspecto del diagnóstico es de importancia en el monitoreo de granjas libres de patógenos específicos o granjas de pie de cría, lo cual entraría en debate si se certifican tales granjas como libres de DP o no. Otro aspecto del diagnóstico que se ha a presentado durante este tiempo (10 años)

de realizar PCR's para detección y diferenciación de EI en ese laboratorio es que, se ha visto que algunas especies de EI no es posible diferenciarlas con ese PCR, por lo que se presenta la necesidad de diseñar otra estrategia basada en técnicas moleculares para lograr dicha diferenciación, importante en estudios epidemiológicos. Por otro lado, Cizek *et al.* (2007) han acumulado experiencias en trabajo de Concentración Mínima Inhibitoria-CMI para tiamulina, valnemulina, tilosina y lincomicina para *Brachyspira* spp. por un periodo de 10 años, con lo cual se ha demostrado un incremento en los valores de CMI para tiamulina y valnemulina (antibióticos de elección para el tratamiento de espiroquetosis intestinales) que indican el desarrollo de resistencia de *B. hyodysenteriae* a estos antimicrobianos. En México, comienzan a generarse datos de valores CMI de tiamulina, valnemulina y tilosina para aislados de EI de cerdos de granjas de México (Corona-Barrera *et al.*, 2009). El estudio anterior fue ampliado incluyendo mas aislados, de los cuales, los valores de CMI de tiamulina para aquellos obtenidos de una misma granja fueron de 4.0 µg/ml, prácticamente en el límite de resistencia (Corona-Barrera *et al.*, 2010, *trabajo aceptado para presentarse en IPVS 2010, Vancouver, Can*). El estudio anterior es novedoso y contribuye con información consistente que genera conocimiento para apoyar sugerencias o recomendaciones en beneficio del gremio especialista en cerdos.

Otro de los avances en metodologías aplicadas a enteropatógenos en México, el año pasado (2009) se presentó en AMVEC un trabajo de investigación para la detección de *Salmonella* spp., y *B. hyodysenteriae* mediante un Múltiple PCR (Carrera *et al.*, 2009), el cual ha sido validado con muestras de campo de cerdos con DP, trabajo que se encuentra en última fase de validación para tenerlo disponible para el gremio de especialistas en cerdos muy pronto. Esa herramienta de diagnóstico resolverá una parte de la detección de enteropatógenos, sin embargo otras pruebas complementarias son necesarias (histopatología para el caso de *Lawsonia* y aislamientos para el caso de EI), ya que la información que aporta ese PCR queda limitada en estudios sistemáticos en donde se busca complementar la información que aporta cada prueba. Para el caso de infecciones por EI, se sabe que más de una especie de espiroquetas puede encontrarse en una granja, por lo que ese PCR no detectaría infecciones por *B. pilosicoli* u otra EI debido a que los iniciadores están diseñados para detección de *B. hyodysenteriae*. Actualmente nuestro grupo de trabajo está trabajando en este PCR Múltiple usando iniciadores para el género *Brachyspira* (trabajo aceptado para presentarse en AMVEC 2010), por lo que se espera detecte presencia de cualquier especie de *Brachyspira* en combinación con *Salmonella*, *L. intracellularis* o ambas si es el caso. Integrar el aporte de cada prueba es lo relevante del especialista en cerdos para lograr una mejor interpretación de los resultados de laboratorio.

Para el caso de espiroquetas intestinales es importante tener en cuenta que son varias las especies del género *Brachyspira*, y que afectan a varios hospederos. En particular, *B. pilosicoli* además de afectar al cerdo también afecta a otros animales de producción como gallina de postura, y otros animales domésticos como perro y también al humano. Lo anterior tiene relevancia desde el punto de vista epidemiológico, sin embargo se cuenta con muy poca información en México debido a que no se ha realizado un estudio extenso en esos otros hospederos pero se ha encontrado la presencia de *Brachyspira* spp. tanto en aves (gallina de postura y gallo de pelea) como perro en México (Corona-Barrera *et al.*, 2007). Dentro de los avances del diagnóstico de enteropatógenos del cerdo en México se conoce el dato de la situación epidemiológica de *Brachyspira* en granjas porcinas gracias a la implementación de las técnicas de aislamiento e identificación de espiroquetas intestinales en el país a partir de 2006. La ocurrencia de *Brachyspira* spp. por aislamiento bacteriológico es de 21.9 % de granjas muestreadas (16/73) con una prevalencia de 7.6 % (67/876) en cerdos de granjas porcinas del norte, centro y sur de México (Corona-Barrera *et al.*, 2009). Importante es mencionar que las técnicas de diagnóstico con la que se cuenta en México incluyen el aislamiento de *Salmonella* y *Campylobacter*, de los cuales del primero se han logrado obtener aislados de granjas donde también se aisló *Brachyspira*, lo cual deja claro la capacidad de identificar infecciones mixtas, sin embargo se requiere realizar más estudios para conocer la relevancia de esto porque no se ha logrado realizar evaluaciones de los efectos de esas infecciones mixtas en las granjas afectadas.

En otros países de Latinoamérica tampoco se cuenta con laboratorios especializados en el diagnóstico de enteropatógenos (*Brachyspira*, *L. intracellularis*), sin embargo se ha iniciado trabajo en esta área tanto en Argentina (MVZ Alicia Carranza y Dr. Arnoldo Ambrogi-FMVZ Universidad de Río Cuarto) y Colombia (Dra Martha Pulido Landinez-FMVZ Universidad Autónoma de Colombia). Lo anterior marca el inicio de desarrollo del área de enteropatógenos del cerdo desde la perspectiva Latinoamericana. Al igual que en México se tiene carencia de personal capacitado para desarrollar tareas de diagnóstico especializado en particular microorganismos anaerobios que son considerados fastidiosos! Sin embargo en la Universidad de Bello Horizonte (Minas Gerais), Brasil se está trabajando para implementar una unidad de inmunodiagnóstico para el caso particular de *L. intracellularis* bajo la dirección del Dr. Roberto Guedes, colega conocido en el gremio AMVEC.

El futuro del diagnóstico de enteropatógenos del cerdo será la combinación de varias herramientas diagnósticas tanto bacteriológicas (aislamiento), microbiológicas (inmunohistoquímica, serología) y moleculares (PCR, secuenciación-genotipificación usando la información de varios genes, ej., técnica MLST). Muy importante es interpretar la información que proporciona cada prueba diagnóstica para entender mejor las enfermedades, de ahí la necesidad e importancia de contar con recursos humanos calificados para llevar a cabo las tareas correspondientes de patología, bacteriología, microbiología y epidemiología de enteropatógenos.

## Referencias

Carrera SE., Socci G., Diosdado VF., Vázquez NJ. y Corona BE. (2009). Establecimiento de un PCR múltiple para la detección de *Brachyspira hyodysenteriae* y *Salmonella* spp. en cerdos. *XLIV Congreso Nacional de la Asociación Mexicana de Médicos Veterinarios Especialistas en Cerdos*. Puerto Vallarta, Jal., julio 23-25, 2009.

Corona-Barrera E. (2002). Phd Thesis. The University of Edinbugh, Scotland UK

Corona, E., Jiménez, F., Munguía, J., Rivera, K., Lagunas, S., Fajardo, R. y Pradal-Roa, P. (2006). Aislamiento de espiroquetas intestinales del género *Brachyspira* en el Estado de México. *XLI Congreso Nacional de la Asociación Mexicana de Médicos Veterinarios Especialistas en Cerdos.*, Ixtapa, Gro., México., agosto 16-19 2006. Resumen 197.

Corona-Barrera, E., Munguía, J.; Rivera, K.; Jiménez, F.; Fajardo, R.; Pradal-Roa, P. y Thomson, J. (2007). Aislamiento de espiroquetas intestinales del género *Brachyspira* de cerdo, perro y aves (gallina y gallo de combate) en México. *V Congreso Internacional de Epidemiología*. Villahermosa, Tab., México., octubre 10-13 2007, p. 444-448.

Corona-Barrera, E., Munguía, J.; Rivera, K.; Jiménez, F.; Fajardo, R.; Pradal-Roa, P. and Thomson, J. (2009). Isolation and identification of intestinal spirochaetes from pig farms from the northern, central and southern areas of México. *V International Conference on Colonic Spirochaetal Infections in Animals and Humans*. León, España., junio 8-10 2009. Resumen 05.

Corona-Barrera, E., Munguía, J. and Pradal-Roa, P. (2009) Concentración mínima inhibitoria de tiamulina, valnemulina y tilosina para *Brachyspira pilosicoli* y *Brachyspira* spp aisladas de granjas porcinas de México. *XLIV Congreso Nacional de la Asociación Mexicana de Médicos Veterinarios Especialistas en Cerdos*. Puerto Vallarta, Jal., julio 23-25, 2009.

Corona-Barrera, E., Pradal-Roa, P., Munguía, J., and Thomson, J. (2010). Minimum inhibitory concentration of tiamulin, valnemulin and tylosine for *Brachyspira hyodysenteriae*, *Brachyspira pilosicoli* and *Brachyspira* spp. isolated from pig farms in México. XXI International Pig Veterinary Society Congress. Vancouver, British Columbia, Canada, July 18 to 21, 2010.

Cizek et al., (2007). IV International Conference on Colonic Spirochaetal Infections in Animals and Humans. Prague, Czech. Republic, May 20-22 2007.

Elder, R.O., Duhamel, G.E., Schafer, R.W., Mathiesen, M.R. and Ramanathan, M. (1994). Rapid detection of *Serpulina hyodysenteriae* in diagnostic specimens by PCR. *J. Clin. Microbiol.* 32 (6): 1497-1502.

Leser, T.D., Møler, K., Jensen, T.K. and Jorsal, S.E. (1997). Specific detection of *Serpulina hyodysenteriae* and potentially pathogenic weakly  $\beta$ -hemolytic porcine intestinal spirochetes by polymerase chain reaction targeting 23S rDNA. *Mol. Cellular Probes.* 11: 363-372.