

PRESENCIA DE CAMPYLOBACTER EN CERDOS LACTANTES CON DIARREA

Pedro Smith S. (MV), Lautaro Pinochet V. (MV), Gastón Alegría R. (MV),
Juan Lazo Q. (MV), Claudio Freixes C. (MV).

Campylobacter in diarrhoeic suckling pigs

The presence of Campylobacter organisms was investigated in one hundred suckling pigs with diarrhoea. For this purpose, bilis and scrapes of small and large intestine were cultured for isolation. Two different isolation techniques were employed, ultrafiltration and Butzler selective medium.

The presence of Campylobacter was demonstrated in 32% of the pigs, isolating both C. coli and C. jejuni species with 96.8% for the former and 3.2% for the latter. No other Campylobacter species reported in swine were isolated. The organisms were recovered in 67.4% from the large intestine, 30.2% from the small intestine and 2.3% from bilis. Antimicrobial susceptibility test, showed that 96.6% of the strains were sensitive to neomycin.

Una de las principales enfermedades infecciosas que afecta a los cerdos jóvenes es la gastroenteritis (Halgaard, 1981; Alexander, 1981). Entre los agentes aislados en estos procesos infecciosos, se encuentran las siguientes bacterias del género *Campylobacter*:

- *Campylobacter sputorum* subespecie *mucosalis*, causante del síndrome adenomatosis intestinal (Lawson y Rowland, 1974).
- *Campylobacter hyointestinalis*, descrito recientemente relacionado con una enfermedad llamada ileítis proliferativa, la cual afecta principalmente a yeyuno terminal e íleon (Gehbart y Cols., 1983).
- *Campylobacter coli*, se aísla en animales sanos y enfermos y según algunos autores sería un patógeno primario o secundario de la diarrea del cerdo (Olubunmi y Taylor, 1982).
- *Campylobacter jejuni* se considera comensal para el cerdo, pero causa enteritis e infecciones sistémicas en el hombre (Butzler y Skirrow, 1979).

En la actualidad, los antecedentes de la presencia de *Campylobacter* en la etapa de lactante son insufi-

cientes y a menudo contradictorios. Debido a lo anterior, este estudio tuvo como objetivo aportar conocimientos sobre la participación de estos organismos en la diarrea del cerdo lactante.

MATERIAL Y METODOS

Muestras:

Se trabajó con 100 cerdos lactantes diarreicos (0-30 días de edad) de planteles de tipo industrial de la Región Metropolitana. Todos operaban bajo el sistema de crianza intensiva para el ciclo completo. Los animales fueron sacrificados o muertos naturalmente por el síndrome diarreico. Se tomaron muestras de segmentos intestinales (intestino grueso e intestino delgado) y vesícula biliar en cada uno de los cerdos.

En el caso de los segmentos intestinales, la mucosa fue lavada y raspada. Luego triturada, suspendida y sometida a centrifugación según técnica descrita por Gehbart y Cols. (1983). El inóculo de bilis se obtuvo directamente de vesícula biliar.

Aislamiento:

Se utilizaron simultáneamente las siguientes técnicas de aislamiento en placa:

A) Inóculo sin filtrar sembrado en medio enriquecido selectivo de Butzler (Butzler y Cols., 1973).

B) Inóculo previamente filtrado en Millipore de 0,65 μm y cultivado en medio enriquecido agar

Laboratorios de Microbiología y Enfermedades Infecciosas.
Departamento de Medicina Preventiva Animal. Facultad de
Ciencias Veterinarias y Pecuarias. Universidad de Chile.
Casilla 2, Correo 15. Santiago, Chile.

Proyecto FIA-1984-85. Ministerio de Agricultura. Chile.

base Mueller Hinton con 7% de sangre desfibrinada ovina (Gehbart y Cols., 1983).

El inóculo de bilis se sembró directamente en este medio sin previa filtración. Los cultivos fueron incubados en condiciones de microaerofilia a 37°C. A partir de las 48 horas de incubación fueron observados cada 24 horas, hasta un máximo de 6 días.

Las colonias sospechosas de ser *Campylobacter* fueron sometidas a exámenes directos en frotis con tinción de Gram, y a fresco para verificar su movilidad característica (Smibert, 1978). Estas colonias se sembraron en agar tioglicolato y se conservaron a -20°C, hasta su tipificación.

Tipificación de los aislamientos:

Se realizó en base a pruebas bioquímicas y de tolerancia a algunos compuestos químicos, empleando la clave descrita por García y Cols. (1983).

Las técnicas para estas pruebas se ejecutaron según lo descrito por:

- Catalasa (Smibert y Krieg, 1981).
- Oxidasa (Rosef e Yndestad, 1982).
- Producción de H₂S en medio sensitivo (Skirrow y Benjamin, 1980).
- Hidrólisis del hipurato (Harvey, 1980).
- Tolerancia a cloruro de trifeniltetrazolio (Gehbart y Cols., 1983).
- Tolerancia a la glicina (Neill y Cols, 1978).
- Incubación a 25°C y 43°C. (Skirrow y Benjamin, 1980).
- Sensibilidad al ácido nalidíxico y cefalotina (Skirrow y Benjamin, 1980).

Prueba de susceptibilidad a agentes microbianos:

Se usó el método de difusión en agar Mueller Hinton incubándose a 37°C durante 48 horas.

Se utilizaron discos conteniendo las siguientes concentraciones de antimicrobianos: neomicina 30 µg, tetraciclina 30 µg, sulfametoxazol 23,75 µg, con trimetoprim 1,25 µg, ácido nalidíxico 30 µg y cefalotina 30 µg.

RESULTADOS

Se aislaron microorganismos del género *Campylobacter* de 32 cerdos (32%). Las especies aisladas correspondieron a las de tipo termofílico (*C. jejuni/coli*). Al realizar la tipificación de los aislados se observó que 31 eran *C. coli* y uno *C. jejuni*.

Los resultados de la frecuencia de aislamiento de *C. coli*, según tipo de muestra, se presentan en el cuadro 1.

CUADRO 1
FRECUENCIA DE AISLAMIENTO
DE *CAMPYLOBACTER COLI* DESDE CERDOS
LACTANTES CON DIARREA, SEGUN TRES TIPOS
DE MUESTRAS

Tipo de muestra	Porcentaje	
	Positivos	Negativos
*I. Delgado (n = 100)	13	87
*I. Grueso (n = 100)	29	71
Bilis (n = 100)	1	99

*I. = intestino.

La frecuencia de aislamiento desde intestino grueso fue significativamente mayor que en intestino delgado. (Test de Mc Nemar, p < 0,01). La cepa de *C. jejuni* fue aislada desde intestino grueso de uno de los cerdos.

En relación a las técnicas de aislamiento empleadas, los resultados se muestran en el cuadro 2.

CUADRO 2
AISLAMIENTO DE *CAMPYLOBACTER COLI*
SEGUN TECNICAS USADAS

Técnica	Aislamiento		Total
	Positivo	Negativo	
Sin filtrar en medio Butzler	28	72	100
Filtrado en MHE*	20	80	100

*Agar Mueller Hinton enriquecido con 7% de sangre ovina desfibrinada.

CUADRO 3
SUSCEPTIBILIDAD A AGENTES ANTIMICROBIANOS
EN 30 AISLADOS DE *CAMPYLOBACTER COLI*

Antimicrobianos	Resistente	Intermedia	Sensible
Acido nalidíxico	0/30	0/30	30/30
Neomicina	0/30	1/30	29/30
Tetraciclina	2/30	9/30	19/30
SXT*	15/30	0/30	15/30
Cefalotina	29/30	0/30	1/30

*Sulfametoxazol con trimetoprim.

No se observaron diferencias entre ambas técnicas de aislamiento ($p > 0,01$). La cepa de *C. jejuni* se aisló en el medio selectivo de Butzler.

Los resultados de las pruebas de susceptibilidad para *C. coli* frente a algunos agentes antimicrobianos, se presentan en el cuadro 3.

DISCUSION

El aislamiento de especies termofílicas de *Campylobacter* desde el intestino del cerdo es un hecho frecuentemente reportado en la literatura extranjera (Skirrow y Benjamin, 1980; Sticht-Groh, 1982). Asimismo, los porcentajes de aislamiento presentan un amplio rango de variación, desde un 0,9% (Prescott y Munroe, 1982) hasta un 70% (Sticht-Groh, 1982).

El porcentaje de aislamiento de *Campylobacter* termofílicos en este estudio, difiere de un trabajo similar realizado en nuestro país, en que se aislaron estas especies en el 100% de cerdos de 35 a 45 días de edad, a partir de tómulas rectales (Figuroa y Cols., 1981).

Esta diferencia podría atribuirse a que las edades de los animales son distintas, o también a que un aislado desde tómula rectal detectaría *Campylobacter* libre en las fecas, el que puede ser más abundante que aquel obtenido desde un raspado de mucosa intestinal que estaría adherido o inserto en la mucosa.

Sin embargo, los resultados del presente estudio son coincidentes con aquellos obtenidos por Soto (1985), que describe un 27,4% de aislamiento de *C. coli* en cerdos lactantes y de recría en planteles de la zona central.

El hecho de haber aislado *C. coli* en porcentaje muy superior a *C. jejuni* concuerda con lo descrito por la literatura para la especie porcina (Skirrow y Benjamin, 1980; Sticht-Groh, 1982).

No se logró aislar otras especies que se pueden encontrar en cerdos con enteropatías tales como *Campylobacter sputorum subespecies mucosalis* y *Campylobacter hyointestinalis*. Esto se podría deber a que ambas especies se encuentran aparentemente sólo en cerdos que ya han sido destetados e incluso en animales adultos (Lawson y Rowland, 1974; Gehbart y Cols., 1983).

En relación a la mayor frecuencia de aislamiento desde intestino grueso, no existen antecedentes bibliográficos al respecto. Estos resultados sugieren que la colonización por *C. coli* en el cerdo se efectúa preferentemente en el intestino grueso.

El aislamiento de *C. coli* desde secreción biliar del cerdo no ha sido descrito previamente, sin embargo, *Campylobacter fetus subespecie fetus* se aísla regularmente desde vesícula biliar en bovinos infectados en forma natural o experimental (García

y Cols., 1983). Por otra parte Al-Mashat y Taylor (1980) describen el aislamiento de *C. jejuni*, también en el bovino, tanto de vesícula biliar como desde el intestino, lo que indicaría, según estos autores, una fase sistémica de la infección y un posible sitio de persistencia de *C. jejuni* fuera del intestino.

En relación a los métodos de aislamiento, aun cuando no se encontraron diferencias significativas en cuanto a la eficiencia de recuperación de *C. coli*, sería recomendable el empleo de un medio enriquecido y selectivo, ya que se evita el filtrar las muestras, con el ahorro de tiempo que de ello deriva. Lo anterior concuerda con lo propuesto por otros autores (Bolton y Coates, 1983; Martín y Cols., 1983).

Dado que en esta oportunidad no se aislaron otras especies de *Campylobacter*, no fue posible demostrar si existía complementariedad entre las técnicas empleadas.

La sensibilidad a los antimicrobianos usados, concuerda con la descrita para el grupo *Campylobacter jejuni/coli* (Butzler y Skirrow, 1979). Así por ejemplo, *C. coli* presentó altos porcentajes de sensibilidad del ácido nalidíxico y de resistencia a la cefalotina. Se observó además, un alto porcentaje de sensibilidad a la neomicina, antibiótico que se usaba profusamente para tratar las diarreas en los planteles estudiados.

En la actualidad, es discutido el verdadero rol de *C. coli* en la diarrea del cerdo, existiendo autores que afirman sería un habitante normal del intestino (Ferne y Cols., 1975; Sticht-Groh, 1982), mientras otros lo proponen como un patógeno sólo en la etapa de lactancia (Taylor y Olubunmi, 1981; Olubunmi y Taylor, 1982).

De acuerdo a los resultados de este estudio, no se podría apoyar en forma consistente alguna de las hipótesis anteriores. Sin embargo, según informaciones entregadas sobre las muestras de los 32 cerdos positivos a *C. coli* en este trabajo, por exámenes realizados en otros laboratorios, *C. coli* se encontró como único agente infeccioso en once oportunidades y en el resto de los casos acompañados por otros agentes como: Rotavirus (8 casos), *Escherichia coli* (4 casos), Rotavirus y *Escherichia coli* (4 casos), *Coccidia* (3 casos) y Rotavirus, *Escherichia coli* y *Salmonella* (1 caso) (Síndrome diarreico, 1985).

Es posible que *C. coli* esté jugando un rol patógeno de importancia, ya sea como agente primario o bien como patógeno oportunista; sin embargo, para responder a estas interrogantes se hace necesario continuar con estos estudios, diseñando modelos experimentales que permitan determinar la capacidad enteropatogénica, de *C. coli*, de este modo se conocerá en forma más clara cuál es la real participación de *C. coli* en el síndrome diarreico del cerdo lactante.

RESUMEN

Se investigó la presencia de microorganismos del género *Campylobacter* en 100 cerdos lactantes con diarrea, empleándose muestras de raspado de intestino delgado y grueso y secreción biliar. Se usaron dos técnicas diferentes de aislamiento, ultrafiltración y Medio Selectivo de Butzler, resultando este último el más apropiado.

Se demostró la presencia de *Campylobacter* en 32% de los cerdos, aislándose *C. coli* (96,8%) y *C. jejuni* (3,2%). No se aislaron otras especies de *Campylobacter* que se describen para el cerdo. Los aislados se recuperaron en un 67,4% desde intestino grueso, 30,2% desde intestino delgado y 2,3% desde secreción biliar. Se realizaron pruebas de sensibilidad a antimicrobianos en donde se observó un 96,6% de sensibilidad a la neomicina.

REFERENCIAS

- ALEXANDER, T.J. Piglet diarrhoea: A guide to diagnosis and control. *Br. Vet. J.* 137: 651-662, 1981.
- AL-MASHAT, R.R., D.J. TAYLOR. Production of diarrhoea and dysentery in experimental calves by feeding pure cultures of *Campylobacter fetus subspecies jejuni*. *Vet. Rec.* 107: 459-464, 1980.
- BOLTON, F.J., D. COATES. Development of a blood-free *Campylobacter* medium: screening test on basal media and supplements, and the ability of selected supplements to facilitate aerotolerance. *J. Appl. Bacteriol.* 54: 115-125, 1983.
- BUTZLER, J.P., P. DEKEYSER, M. DETRAIN, F. DEHAEN. Related vibrios in stools. *J. Pediatr.* 82: 493-495, 1973.
- BUTZLER, J.P., M.B. SKIRROW. *Campylobacter* enteritis. *Clin. Gastroenterol.* 8: 737-765, 1979.
- FERNIE, D.S., R.M. GRIFFIN, R.W. PARK. The possibility that *Campylobacter (vibrio) coli* and *Treponema hyodysenteriae* are both involved in Swine dysentery. *Br. Vet. J.* 131: 355-338, 1975.
- FIGUEROA, G., M. TRONCOSO, M.P. ALCAYDE, C. SEPÚLVEDA. Aislamiento de *Campylobacter fetus* sub-especie *jejuni* en heces de porcinos. *Rev. Soc. Chil. Tecnol. Med.* 4: 6-10, 1981.
- GARCÍA, M.M., M.D. EAGLESOME, C. RIGBY. *Campylobacters* important in Veterinary Medicine. *Vet. Bull.* 53: 793-818, 1983.
- GEHBART, C.J., G.E. WARD, K. CHANG, H.J. KURTZ. *Campylobacter hyointestinalis* (new species) isolated from swine with lesions of proliferative ileitis. *Am. J. Vet. Res.* 44: 361-367, 1983.
- HALGAARD, C. Epidemiologic factors in piglet diarrhoea. *Nord. Vet. Med.* 33: 403-412, 1981.
- HARVEY, S.M. Hippurate hydrolysis by *Campylobacter fetus*. *J. Clin. Microbiol.* 11: 435-437, 1980.
- LAWSON, G.H.K., A.C. ROWLAND. Intestinal adenomatosis in the pig: a bacteriological study. *Res. Vet. Sci.* 17: 331-336, 1974.
- MARTIN, W.T., C.M. PATTON, G.K. MORRIS, M.E. POTTER, N.D. PUHR. Selective enrichment broth medium for isolation of *Campylobacter jejuni*. *J. Clin. Microbiol.* 17: 853-855, 1983.
- NELL, S.D., W.A. ELLIS, J.J. O'BRIEN. *Campylobacter* like organism from cattle and pigs. *Res. Vet. Sci.* 25: 368-372, 1978.
- OLUBUNMI, P.A., D.J. TAYLOR. Natural and experimental infection of pigs with *Campylobacter coli*. In: International Pig Veterinary Society Congress. Selected Papers. Mexico, Ed. Pigeon. p. 49, 1982.
- PRESCOTT, J.F., D.L. MUNROE. *Campylobacter jejuni* enteritis in man and domestic animals. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 181: 1524-1530, 1982.
- ROSEF, O., M. YNDESTAD. Some characteristics of *Campylobacter fetus* ssp *jejuni* isolated from pigs, birds and man. *Acta Vet. Scan.* 23: 9-15, 1982.
- SÍNDROME DIARRÉICO AGUDO EN CERDO LACTANTE. Universidad de Chile. Facultad de Ciencias Veterinarias. Santiago: Universidad de Chile, 1985. 183 p.
- SKIRROW, M.B., J. BENJAMIN. "1001" *Campylobacters*: Cultural characteristics of intestinal *Campylobacters* from man and animals. *J. Hyg.* 85: 427-442, 1980.
- SMIBERT, R.M. The genus *Campylobacter*. *Ann. rev. Microbiol.* 32: 673-709, 1978.
- SMIBERT, R.M., N.R. KRIEG. General characterization. In: American Society for Microbiology. Manual of methods for general bacteriology. Washington D.C. p. 420, 1981.
- SOTO, C. Detección y Caracterización de *Campylobacter coli* y *Treponema hyodysenteriae* en cerdos lactantes y de recría en la Región Metropolitana. Tesis de Grado. Santiago. Escuela de Ciencias Veterinarias. Universidad de Chile, 1985.
- STICHT-GROH, V. *Campylobacter* in healthy slaughter pigs: A possible source of infection for man. *Vet. Rec.* 110: 104-106, 1982.
- TAYLOR, D.J., P.A. OLUBUNMI. A re-examination of the role of *Campylobacter fetus* ssp *coli* in enteric disease of the pig. *Vet. Rec.* 109: 112-115, 1981.

Recibido agosto 1986, aprobado octubre 1986.