

RAPIDA IDENTIFICACION DE BACTERIAS EN DIARREAS DE CERDOS EN DESARROLLO: VENTAJAS DE LA PCR RESPECTO A TECNICAS DIAGNOSTICAS CONVENCIONALES

Tamiozzo, P.¹; Parada, J.¹; Carranza, A.¹; Pelliza, B.¹; Illanes, N.¹; Bertone, J.¹; Ambrogio, A.¹
1-Departamento Patología Animal. Facultad de Agronomía y Veterinaria. Universidad Nacional de Río Cuarto.

Ruta 36 Km 601. Río Cuarto. Córdoba. República Argentina.

*e-mail: ptamiozzo@avv.unrc.edu.ar

INTRODUCCIÓN

La diarrea es una manifestación clínica de gran importancia en cerdos en crecimiento, debido al desmejoramiento de los índices productivos. Los principales agentes involucrados son *Lawsonia intracellularis*, *Brachyspira pilosicoli* e *hyodysenteriae* y *Salmonella spp.* La rápida identificación de agentes permite tomar medidas como medicación u otras que redundan en beneficio económico. La reacción en cadena de la polimerasa (PCR por sus siglas en inglés) es una herramienta sensible y específica para lograr un diagnóstico temprano en comparación con técnicas convencionales usadas para estos agentes como el aislamiento o la inmunohistoquímica (IHQ).

El objetivo de este trabajo es evaluar la utilización de la PCR para la rápida identificación de estos patógenos en materia fecal con ejemplos representativos de la tarea que se desarrolla rutinariamente en nuestro laboratorio, con toda la casuística que se recibe.

MATERIALES Y MÉTODOS

Salmonella sp.: se reportó un caso de un animal que, pese a haber sido tratado con antibióticos, presentaba un cuadro de diarrea. A la necropsia se observó una tiflocolitis fibrinonecrotica. Se tomaron muestras de ganglio mesenterico ileocecal (GMI) y contenido de colon (CC). Las muestras se procesaron según lo descrito por Parada y col. (2007), consistente en un pre cultivo (BPW), enriquecimiento selectivo (RV), y siembra en BGA, con confirmación por pruebas bioquímicas. Paralelamente se realizó PCR de una alícuota del medio de enriquecimiento (RV) (2).

Brachyspira pilosicoli e hyodysenteriae: Dos animales de establecimientos distintos, con historias de diarrea son necropsiados encontrando colitis. Se toman muestras de CC para aislamiento del agente (en agar sangre con colistina, vancomicina y espectinomicina, cultivado en anaerobiosis a 42°C) y para D-PCR (3).

Lawsonia intracellularis: Muestras de íleon de 4 animales de 160 días de edad con diarrea hemorrágica son procesadas por PCR (4) e IHQ (inmunoperoxidasa con anticuerpo primario policlonal y kit DAKO LSAB+System-HRP-).

RESULTADOS

Salmonella sp.: la PCR arrojó resultado positivo a *Salmonella sp* luego de 24-36 hs., en contraste con la detección por bacteriología de

GMI que fue positiva a las 48-72 hs. La bacteriología de CC fue negativa.

Brachyspira pilosicoli e hyodysenteriae: Los resultados del D-PCR se obtuvieron al cabo de 2 días aprox, identificando *B. hyodysenteriae* en ambos animales. Para el aislamiento del agente, sin identificación de género, se tardó 4 a 7 días.

Lawsonia intracellularis: Se obtuvieron resultados positivos a PCR, en un periodo de 2 días aprox. mientras que la IHQ pudo observarse en 36 hs. aprox.

DISCUSIÓN

Para los 2 primeros casos presentados, el PCR permitió una identificación más rápida de los agentes respecto a otras técnicas. Para salmonella, si bien el PCR utilizado puede arrojar resultados falsos positivos con otros microorganismos (2), el protocolo de aislamiento y pruebas bioquímicas resultó más lento en la identificación del agente.

El aislamiento de brachyspiras es muy lento y complejo, si bien podría ser considerada la prueba de oro, que a la vez, necesitaría confirmarse por otras bioquímicas o de ADN. Sin embargo, tanto para estas como para *Salmonella*, el cultivo previo al PCR sería una buena opción para aumentar la sensibilidad de la técnica, diluir factores inhibidores y a la vez ganar tiempo en el diagnóstico.

En el caso de *Lawsonia*, es indudable el tiempo que se gana en comparación con el cultivo, también complejo del microorganismo, si bien la IHQ podría hacerse mas rápidamente, el hecho de usar anticuerpo primario policlonal puede dar reacciones cruzadas con *Campylobacter sp.*

BIBLIOGRAFÍA

- 1-Parada J. *et al.* 2007.13 ABRAVES.SC: Brazil.
- 2-Stone G. *et al.* 1994. J. Clin. Microbiol., 32:1742-1749.
- 3-La T. *et al.* 2003. J. Clin. Microbiol.41 (7): 3372-3375.
- 4-Jones, GF. *et al.* 1993. J Clin. Microbiol.31: 2611-2615.