

METODOS DE DIAGNOSTICO PARA BRACHYSPIRAS spp

Illanes, N¹; Bertone, J¹; Romanini, S¹. Pelliza, B¹; Di Cola, G¹; Ambrogi, A¹. Tamiozzo, P¹; Chanique, A¹; Carranza, A¹.

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: nillanes@exa.unrc.edu.ar

INTRODUCCIÓN

En cerdos *Brachyspira hyodysenteriae* se reconoce como el agente causal de Disentería Porcina y *Brachyspira pilosicoli* de Espiroquetosis Intestinal Porcina (1). Para lograr un diagnóstico presuntivo, han sido descriptas técnicas sencillas de observación de espiroquetas de raspado de colon (4), pero para un diagnóstico de certeza existen otras técnicas como el PCR (5) y el aislamiento, que por ser lento y complejo no es usado de rutina en los laboratorios de diagnóstico (2) sin embargo es la prueba patrón.

El objetivo del presente trabajo es describir la metodología usada tanto para realizar el diagnóstico presuntivo como de certeza en animales de dos establecimientos con signos clínicos característicos.

MATERIALES Y MÉTODOS

Historia Clínica y Animales: Se visitaron 2 establecimientos en los cuales los cerdos presentaban diarrea con disminución de peso en la etapa de crecimiento-terminación. En el Establecimiento A la diarrea era gris mucosa y en el establecimiento B tenían colitis mucohemorrágica. En cada uno de los establecimientos se realizó la necropsia de dos animales observándose edema de la mucosa de intestino grueso, de mesenterio y de nódulos linfáticos asociados. De cada uno de los animales se tomó un trozo de colon proximal.

Bacterioscopía: Se realizaron dos extendidos finos por animal, raspando la superficie de la mucosa del colon con el borde de un portaobjeto, y se fijo con calor. Uno de ellos fue coloreado por la técnica de Gram (kit Britania®). El otro frotis fue coloreado por el método de impregnación argéntica Fontana-Tribondeau (F-T), específica para espiroquetas. Ambos extendidos una vez teñidos fueron observados con un aumento de 100X con aceite de inmersión en un microscopio óptico. Además se observó por campo oscuro (CO) el contenido de colon según lo descrito por estudios previos (5).

Histopatología: Las muestras de colon se fijaron con Bowin's y se colorearon con Hematoxilina-Eosina (H/E) y Wartin-Starry (W-S).

Aislamiento: Se sembraron muestras de contenido intestinal en agar sangre suplementado con colistina, vancomicina y espectinomicina, cultivado en anaerobiosis a 42°C por 4 a 7 días.

D-PCR: se extrajo ADN de contenido intestinal y de los cultivos. Se corrió la prueba según lo descrito por La y col (5), con algunas modificaciones (4).

RESULTADOS

En los extendidos de contenido intestinal se observaron estructuras espiroquetales. **H/E:** se observaron criptas de Lieberküm elongadas con

hiperplasia de células calciformes y focos de necrosis coagulativa. **W-S:** Abundante cantidad de espiroquetas en la luz de las glándulas y epitelio luminal. En la placa de agar sangre se observaron zonas de beta hemólisis en agar sangre, se realizaron frotis que se tiñeron con gram y se observaron espiroquetas al microscopio óptico. El D-PCR de cultivo del Est. A dio negativo, el del Est. B dio positivo para *Brachyspira hyodysenteriae*, tanto de cultivo como de contenido intestinal. Todos los resultados se muestran resumidos en el cuadro 1.

Cuadro 1. Resumen de las pruebas realizadas.

Animal	CO Gram F-T	D-PCR cont. intestinal I	Cultivo	D-PCR cultivo	W-S
Est. A	+	N/P	+	-	+
Est. B	+	+	+	+	+

N/P: No procesada

DISCUSIÓN

La visualización de estructuras espiroquetales con las diferentes tinciones, permitieron llegar a un diagnóstico presuntivo correcto y según indican estudios anteriores existe correlación entre ellas (4). Estas, junto con el D-PCR de contenido intestinal permiten un abordaje rápido del problema. Los resultados de D-PCR de contenido intestinal del Est. B son coherentes con los del D-PCR del cultivo ya que en ambas se detecta *Brachyspira hyodysenteriae*.

Si bien el cultivo es la prueba que confirma la presencia del agente, sustentado por el PCR, las técnicas usadas para el diagnóstico presuntivo son más rápidas en comparación con el aislamiento.

En el est. A, la observación de estructuras, indican la presencia del agente, reforzado esto por el aislamiento, pero los resultados de PCR sugieren que podría tratarse de otra especie de *Brachyspira*, distinta a la *hyodysenteriae* o *pilosicoli*.

BIBLIOGRAFÍA

- 1-Barcellos, D.E.S.N. 2002. 1. Sem. Novartis Latino-americano sobre lleite e Colite suina. Brasil, pág. 5-23.
- 2- Tasu C., y cols. 2004. J. Vet. Med. Sci. 66 (7):875-877.
- 3- Girard C. y cols. 1995. Can. Vet. J.36:291-295.
- 4-Illanes y col. 2007. 13 ABRAVES S.C. Brasil.
- 5- La y col. 2003. J. Clin. Microbiol. 41 (7): 3372-3375.