

BECA DE ENTRENAMIENTO CONVOCATORIA 2013

INFORME FINAL

Apellido y nombres del Becario: CHAVEZ Flavia Andrea

Apellido y nombres del Director: Dra. MACHUCA Mariana Alejandra

Regional: La Plata.

Universidad: Universidad Nacional de La Plata.

Unidad Académica: Facultad de Ciencias Veterinarias.

Área temática: Sanidad Animal, Patología Porcina.

Título del Plan de Trabajo: "Estudio clínico-patológico de las causas de diarrea en cerdos durante la etapa de crecimiento-engorde".

1. Exposición sintética de la labor desarrollada durante el año de ejecución de la beca

Se realizó, en colaboración con otros becarios, la búsqueda de todos los casos de porcinos, remitidos para su estudio histopatológico al Servicio de Diagnóstico del Laboratorio de Patología Veterinaria de la Facultad de C. Veterinarias de la U.N.L.P., durante los últimos 12 años. Se seleccionaron los casos con diagnóstico histopatológico de enteropatía proliferativa porcina (EPP), disentería porcina (DP) y salmonelosis porcina (SP), especialmente en la categoría desarrollo y terminación. Estos fueron evaluados nuevamente al microscopio óptico con el objetivo de realizar un entrenamiento en la observación de lesiones microscópicas, y de realizar una descripción detallada y categorización de los cambios observados a nivel de las vellosidades, criptas, lamina propia, placas de Peyer, submucosa y muscular en cada uno de los casos.

Adicionalmente, se realizaron técnicas complementarias de diagnóstico en aquellos casos que no se habían realizado previamente, con el objetivo de asociar las lesiones presentes en los distintos componentes del intestino con los agentes etiológicos involucrados en las entidades previamente mencionadas. Para ello se realizó sobre los cortes de intestino técnicas de histoquímica, tinción con sales de plata -Warthin Starry, para detección de *Brachyspira* spp., como así también técnicas de inmunohistoquímica, para *Lawsonia intracellularis* y circovirus porcino tipo 2. Esto permitió realizar el diagnóstico etiológico y relacionarlo con la sospecha fundamentada en las lesiones histopatológicas.

A partir de las lesiones microscópicas, y de los resultados de los estudios complementarios, se pudo identificar, en la mayoría de los casos, el agente etiológico involucrado. En función de estos resultados los casos éstos fueron categorizados en cada una de las entidades previamente mencionadas: EPP, con sus diferentes formas de presentación adenomatosis intestinal (AI), hemorrágica (EPH) y enteritis necrótica (EN), SP, DP, enfermedades asociadas a circovirus porcino tipo 2 (EA-PCV-2); infecciones mixtas (PCV-2 asociado a EPP, SP, o DP), y por último, la categoría otros que incluyó a los casos que por las lesiones anatomopatológicas o por la falta de estudios complementarios positivos, no pudieron clasificarse en las entidades mencionadas anteriormente (tabla 1).

Se realizaron 6 visitas a establecimientos de producción intensiva de cerdos, y de utilizando un protocolo previamente establecido, se realizó la evaluación clínica y del ambiente e instalaciones, el análisis de los registros productivos, y las necropsias de los animales muertos. Se realizó la toma de muestras de las necropsias de los animales muertos para estudios histopatológicos, bacteriológicos y virológicos, según

correspondiera de acuerdo a las lesiones halladas. Posteriormente, se colaboró con la confección del informe de visita, sumando los resultados de los estudios complementarios y las recomendaciones sugeridas y tratamientos. Estas actividades sirvieron como entrenamiento para la detección clínica y anatomopatológica de los cuadros que afectan más frecuentemente a los cerdos en producción porcina y para la redacción de informes profesionales técnicos.

2. Actividades fuera del proyecto de la beca como complemento para la formación general del becario

- Colaboración en la realización de necropsias de animales recibidos en el Servicio de Diagnóstico del Laboratorio de Patología Veterinaria.
- Colaboración en el diagnóstico histopatológico de muestras remitidas al Servicio de Diagnóstico del Laboratorio de Patología Veterinaria, y en la elaboración posterior de los informes.
- Asistencia en el "X Curso de Actualización de Enfermedades Emergentes y Reemergentes del Cerdo", realizado el 12 y 13 de diciembre de 2013, por el Laboratorio de Patología Veterinaria, de la Fac. de C. Veterinarias de la UNLP.
- Asistencia y colaboración en las dictado del modulo: "Estudios epidemiológicos, económicos y sanitarios del cerdo", 2, 3 y 4 de octubre de 2014, en el marco de la especialización en producción y sanidad porcina.
- Toma de muestras de materia fecal de cerdos con diarrea, y procesamiento de las mismas para detección de ooquistes de *Isospora suis*, mediante técnicas de sedimentación.
- Realización de la técnica serológica de IFI para detección de anticuerpos contra *Lawsonia intracellularis*.
- Revisión de trabajos de extracción de ADN de tacos de parafina y de materia fecal, y de realización de la técnica de PCR.

3. Grado de cumplimiento del plan de trabajo

El trabajo propuesto fue cumplido en relación a sus objetivos y metodología. Cabe mencionar, que si bien originalmente se planteó en el estudio retrospectivo utilizar técnicas de histoquímica e inmunohistoquímica para la identificación de *Lawsonia intracellularis* y *Brachyspira sp.*, se le agregó la realización de técnicas de PCR a partir de tacos parafinados y de materia fecal para la detección de los agentes previamente mencionados. Por otro lado, se realizaron tareas fuera del alcance teórico de la beca, en la medida que fueron surgiendo en el ámbito del grupo de trabajo y hayan sido de interés para la formación general del becario. No se exponen los resultados de las visitas clínicas, debido a que cada una tuvo un motivo de consulta diferente y los resultados de las mismas fueron muy variables.

4. Objetivos alcanzados

OBJETIVO GENERAL

- Se adquirieron conocimientos y habilidades básicas en el diagnóstico clínico, anatomopatológico e histopatológico de enfermedades de los cerdos.

OBJETIVOS PARTICULARES

- Se adquirieron habilidades en la identificación e interpretación de cuadros clínicos en porcinos.

- Se adquirieron habilidades en la realización de necropsias de porcinos, la interpretación de lesiones macroscópicas y la obtención y acondicionamiento de muestras para estudios complementarios.
- Se adquirió conocimientos básicos para la identificación e interpretación de lesiones histopatológicas asociadas a cuadros de diarrea en cerdos durante la etapa de crecimiento-engorde.
- Se logro conocer y aplicar los fundamentos básicos de las técnicas histoquímicas e inmunohistoquímicas.
- Se adquirió habilidad en la realización de técnicas de PCR a partir de tacos parafinados y materia fecal.

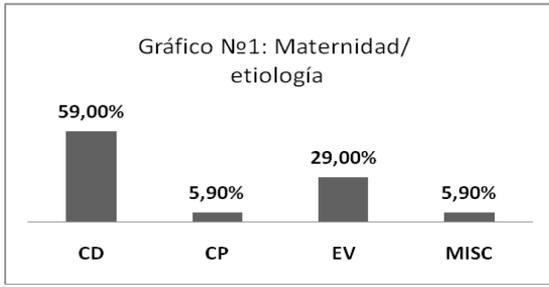
5. Tablas

Tabla 1: diagnóstico de cuadros entéricos remitidos al Laboratorio de Patología Especial Veterinaria, UNLP en el período 2000-2013

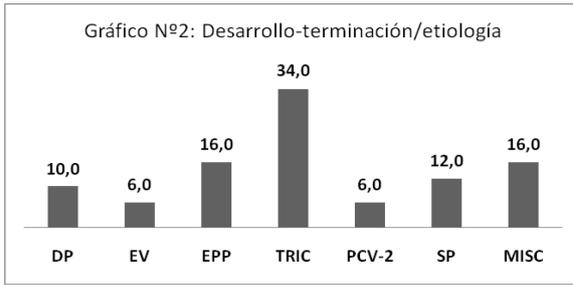
Año	SP	DP	EPP	PCV-2	PCV-2+OTROS	OTROS
2000	0	2	1	1	0	4
2001	1	1	1	0	0	2
2002	0	0	3	0	0	3
2003	3	2	0	3	1	1
2004	4	2	2	0	1	3
2005	2	2	0	2	1	3
2006	0	0	4	1	0	0
2007	1	2	3	1	3	3
2008	1	1	16	5	7	0
2009	3	1	6	0	0	1
2010	1	0	7	3	1	5
2011	1	2	10	3	1	1
2012	0	0	4	0	0	0
2013	5	6	7	3	0	8
total	22	21	64	22	15	34
%	12,35	11,8	35,95	12,35	8,45	19,10

Diagnóstico de cuadros entéricos remitidos al Laboratorio de Patología Especial Veterinaria, UNLP a lo largo del año 2013

De los 296 casos registrados, el 43,9% (130) correspondieron a cuadros digestivos (CD), el 36,5% (108) a cuadros respiratorios y el 19,9% (59) misceláneos. De los clasificados como CD, el 66,2% (86) se diagnosticó con alteraciones en el intestino y, de ellos el 80,2% (69) se presentó en cerdos de desarrollo/terminación y el 18,3 % (19,8) en lechones de maternidad. Los porcentajes de los cuadros entéricos por agente etiológico y edad/categorías se presentan en los gráficos N° 1 y 2 respectivamente. Las lesiones en hígado correspondieron al 33,8 % (41) del total de CD. La relación patológica/etiológica fueron: hepatitis necrotizante asociada a *Salmonella sp.*; necrosis hepática masiva compatible con deficiencia de vitamina E y Se.



CD: *Clostridium difficile*; CP: *Clostridium perfringens*; Enteritis viral;
MISC: misceláneos



DP: Disenteria, EV: enteritis viral, EPP: enteropatía, TRIC: trichuriasis; PCV-2: circovirus; SP salmonelosis; MISC: miscelaneos.

Detección de *Lawsonia intracellularis*, *Brachyspira hyodysenteriae* y *Brachyspira pilosicoli* en materia fecal mediante PCR multiplex. Estudio transversal en 6 granjas intensivas

En las 6 granjas se detectó LI en MF. En la tabla N° 2 se muestra la relación entre la consistencia de la MF y el resultado obtenido mediante PCR para dicha bacteria. Solamente se detectó BH en la granja 6, en 7/11 animales con diarrea, de 11 semanas de vida y con MF grados 1, 2 y 3. Todas las muestras resultaron negativas para BP.

Tabla N°2: Relación entre la consistencia de la materia fecal (MF) y la detección de *Lawsonia intracellularis* (LI).

PCR Li	Grados de Consistencia MF					total
	0	1	2	3	4	
Neg.	355	168	85	7	2	617
Pos.	40	36	33	0	11	120
Total	395	204	118	7	13	737