

El *Clostridium difficile* asociado a diarrea, un patógeno emergente en lechones lactantes



Jesús M. Lamana
Asesor Veterinario

jesusmlamana@gmail.com



Fotos del autor.

Hay muchos microorganismos patógenos que provocan problemas entéricos en los lechones lactantes. Los de tipo vírico son en nuestra área de trabajo los *Rotavirus (vRT)* y el virus de la *Diarrea Epidémica Porcina (vDEP)*. El *virus de la Gastroenteritis Transmisible (vTGE)* solo afecta a la cabaña porcina de USA y Asia. En España no hay casos de *vTGE* desde finales de los años 70, parece que este virus ha mutado y hoy es un virus que solo se detecta serológicamente en el final de la transición, entrada a cebo y que además tiene un tropismo respiratorio, se le denomina *vCRP*, Coronavirus Respiratorio Porcino y en principio sin consecuencias clínicas patológicas. Parece que hay otros virus que están en estudio y que son potencialmente productores de diarrea en lechones lactantes como los *Adenovirus*, *Astrovirus* y *Calicivirus*.

Con respecto a las bacterias que afectan a este tipo de lechones, las infecciones por *Escherichia coli ETEC* son las más prevalentes aunque debido a la gran efectividad de las vacunas anticolibacilares que se aplican en la mayor parte de las granjas de cerdas madres en gestación, son cada vez menos las infecciones por esta bacteria en los lechones lactantes en la primera semana de vida. En donde sigo diagnosticando este tipo de colibacilosis es en cerdas primerizas ya que no se suelen aplicar correctamente los programas vacunales con las bacterinas comerciales, tanto en el momento de la administración durante la gestación como en el número de aplicaciones. En otras fases de la producción porcina como es el destete hay un verdadero rebrote de las infecciones por *E.Coli hemolítico O138, O139, O141*, (F18+ que porta una verotoxina (2e), en varios países de la UE, entre ellos España.

En lo referente a los parásitos el principal problema para los lechones lactantes sigue siendo la coccidiosis provocada por un protozoo, *Isospora suis*. En su control se ha avanzado mucho ya que hay moléculas como el *Toltrazuril* que se utiliza como preventivo, dosificado por vía oral a los lechones lactantes alrededor de los 4 -5 días de vida y otros productos farmacológicos derivados de moléculas vegetales como el *ISADIA (ISAF)*, capaces de controlar por vía premix en cerdas

madres esta parasitosis de los lactantes tan extendida en la granjas porcinas .

Los *Clostridios* como causa etiológica de diarreas en lechones lactantes son en estos momentos muy prevalentes. En los Laboratorios de Diagnóstico Veterinario (LDV) de USA se están diagnosticando cada vez más casos por *Clostridios* que por las cepas de *E. coli ETEC*. En el LDV de la Universidad de Illinois en el 2008, el 37% de las diarreas de los lechones menores de 5 días se diagnosticaron como *infecciones clostridiales*, un 15% por infecciones de *E.coli ETEC*, 12% por *vTGE* y un 9% por *Rotavirus*. En lechones de más de 5 días de vida la *coccidiosis* se lleva la palma con un 40%, pero las *infecciones clostridiales* son el 21%.

En el LDV de Iowa en los años 2005-2006 un 61 % de las diarreas neonatales se diagnosticaron como infecciones por *Clostridios*. Es decir, se va constatando la importancia creciente de los *Clostridios* en la etiopatogenia de los procesos entéricos de los lechones lactantes y en concreto del *Clostridium difficile* que, para distinguirlo del que afecta a otra especie, se le denomina *Clostridium difficile asociado a diarrea* (o a enfermedad por otros autores).

Normalmente, las infecciones en esta etapa están producidas por más de un patógeno, son coinfecciones. En los LDV europeos también siguen el mismo patrón en los diagnósticos laboratoriales, en la República Checa el LDV con la técnica de la PCR múltiple sobre 153 granjas porcinas del 2005 al 2006 se diagnosticaron un 39,20 % como Clostridiosis en lechones lactantes. En Italia, Nardi y cols. en lechones lactantes diagnosticaron infecciones clostridiales más colibacilos en 16 de los 39 casos y en un 44% de los casos estaba implicado el *Clostridium difficile*.

Las referencias publicadas por los veterinarios sobre Clostridios en lactación en los últimos Congresos del IPVS (International Pig Veterinary Society) se han duplicado del IPVS 2008 al IPVS 2010, también en lo que se refiere a parásitos se multiplica por dos, manteniéndose las publicaciones sobre infecciones por *E. coli ETEC*.

» Clasificación de los clostridium que provocan diarrea en lactantes

Las infecciones por *Clostridium* que afectan a los lechones neonatos son las siguientes:

- *Clostridium perfringens* Tipo A que provocan enteritis en lechones lactantes y destetados. Este es el más prevalente en España. Las toxinas producidas son las alfa, beta y CP enterotoxina.
- *Clostridium perfringens* Tipo C que producen enteritis necróticas y a veces hemorrágicas en lechones de un día de edad. Toxinas alfa, beta, beta 2.
- *Clostridium difficile* cuyos síntomas son colitis y edema mesocolónico en lechones de unos 4-6 días de edad. Las toxinas que secretan son las TcdA, TcdB y una toxina binaria.

Estos *Clostridium* conforman la denominada "Diarrea Enzoótica Neonatal" (DEN).

» Caracterización del *Clostridium difficile* (Cd) asociado a diarrea

En medicina humana el *Cd* es uno de los patógenos entéricos más frecuentemente identificado en pacientes hospitalizados. Se aisló por primera vez en 1935 por Hall y O'Toole de las heces de niños recién nacidos y actualmente es el responsable del 10 al 20% de los casos de diarrea asociada al uso de antibióticos y de prácticamente la totalidad de los casos de colitis pseudomembranosa asociada a antibióticos. Actualmente el aumento del número de pacientes con este tipo de colitis y su gravedad hace de este proceso un problema sanitario importante.



Fotos del autor.

El reservorio de *Cd* lo constituyen los pacientes infectados o colonizados por el microorganismo. El 13 % de los pacientes hospitalizados son portadores de esta bacteria. El *Cd* es capaz de persistir en el medio ambiente durante mucho tiempo gracias a la formación de esporos, que se diseminan de un paciente a otro por vía oral, vehiculizados directamente a través de las manos del personal sanitario o por contaminación de diferentes instrumentos sanitarios, enseres de los pacientes, material de enfermería o mobiliario del hospital.

En nuestra práctica en las granjas de porcino podemos considerar la "sala de partos" como nuestro "hospital", es decir el cuidador puede diseminar el patógeno fácilmente provocando una enfermedad nosocomial. El encargado va de una jaula de partos a otra, entra dentro de ella, pasa a otra sala de partos, mueve los lechones, las cerdas. Realiza tratamientos inyectables a los lechones y normalmente no hay desinfección de las botas, el buzo o ropa de trabajo que se ensucia regularmente. Las manos no se lavan con asiduidad, las agujas deben de ser desechables y hay que utilizar una aguja por camada. Así

mismo se puede provocar una enfermedad iatrogénica por la inyección sistemática y desordenada de antibióticos.

En las granjas porcinas donde encuentro problemas con el *Cd* y otros *Clostridium* son granjas donde no hay una política correcta de aplicación de antibióticos, no hay control de las medicaciones antibióticas en cerdas madres, lechones lactantes, etc. El ganadero por su cuenta y a lo largo del tiempo aplica diversos antibióticos sin un criterio adecuado. Normalmente hacen un coctel que lo administran junto al hierro dextrano inyectable, lo que a lo largo de los años crea una situación explosiva con respecto a la resistencia de los animales a los antibióticos y la aparición de problemas como los del caso del *Cd* en lechones lactantes. Los antibióticos más utilizados son los penicilánicos (amoxicilina, ampicilina, fenoximetilpenicilina, etc.) y las quinolonas.

» Diarrea enzoótica neonatal

Está producida por el *Clostridium difficile* que es, en la actualidad, un patógeno emergente en la sala de partos. Este provoca una diarrea a los cuatro días postparto (3-5 días) en los lechones lactantes. La diarrea es de color amarillento y líquida, muy típica, lo que les provoca una grave deshidratación, la morbilidad es muy alta alrededor del 10 % de las camadas, en cerdas primerizas llega al 70%, intracamada todos los lechones están afectados por la diarrea. La mortalidad es baja una media del 2%, pero las consecuencias para toda la camada son una pérdida de peso considerable al destete, alrededor de 1 kg por lechón, algunos lechones no pueden ir a las salas de destete por su deficiente estado y hay que sacrificarlos. En ocasiones hay que retrasar la edad al destete ya que los lechones tienen los días para su destete pero su peso es muy bajo.



Fotos del autor.



Cuando se hace la necropsia en todos los lechones hay una enterocolitis, en un 50% edema del mesocolon y en un 20% con distensión de la pared abdominal y ascitis. Hay veces que cuando se aísla también algún *E. coli* ETEC la mucosa y el contenido intestinal aparecen hemorrágicos, pero no es lo normal.

El proceso de la Diarrea Enzoótica Neonatal confirma la teoría de que muy pocos patógenos entéricos son letales en ausencia de factores complicantes. Como factores complicantes se pueden considerar los siguientes:

- Otros patógenos.
- Alteraciones sociales, muy típico actualmente por los movimientos de lechones entre camadas, adopciones inadecuadas.
- Higiene deficiente en las salas de partos.
- Baja inmunidad calostrál.
- Alteración de la Microbiota Intestinal Porcina.
- Predisposición genética.
- Estrés nutricional.

En todos los casos donde se me ha presentado la clínica de **Cd**, la higiene de la granja era deficiente, los protocolos de limpieza, desinfección y vacío sanitario no se cumplían desde hace años, sobre todo los tiempos referentes a los vacíos sanitarios. Casi siempre son asociados a otros clostridios (*Clostridium perfringens* tipo A) y las adopciones de lechones se realizan con criterios equivocados y demasiado rápidas en el tiempo.

La baja inmunidad calostrál se puede decir que es parcial ya que he comprobado que algunos lechones de la camada no se calostran suficientemente, normalmente los más pequeños. La Microbiota Intestinal Porcina (MIP) del lechón se ve reflejada por la de la madre y es ahí donde se puede actuar sobre ella inclinandola hacia las bacterias saprofitas beneficiosas con la

ayuda de la administración de probióticos en el pienso de la cerda en gestación, esto repercutirá en la MIP del lechón lactante ya que estos microorganismos probióticos poblarán su intestino debido al consumo de la leche y de las heces de la madre.

En este año se ha demostrado que la leche materna no es estéril y que porta una serie de microorganismos que ayudan al lechón lactante a poblar su intestino, no solo adquieren las bacterias del medio ambiente, heces de la madre, piel de los pezones, sino de la propia leche (calostro) materna. Los beneficios de los probióticos provienen de la exclusión competitiva del **Cd** en el intestino, de la acidificación y reducción de la disponibilidad de nutrientes para el microorganismo, estímulo de la glicosilación del epitelio intestinal, estimulación de factores de resistencia innatos como citocinas, mucinas y otros. Los probióticos reducen el riesgo de infecciones por *Salmonella* y *E. coli*.

La predisposición genética a este tipo de infecciones entéricas está muy documentada en lechones, sobre todo en las producidas por *E. coli* y también en el caso de la Enfermedad de los Edemas. En el caso de la Enfermedad de los Edemas es posible seleccionar genéticamente cerdas y verracos que no sean portadores de ciertos genes que predisponen a la enfermedad (algunos tipos de leptinas en la mucosa intestinal). Los estudios en medicina humana sugieren que hay más predisposición a tener una enfermedad infecciosa que a padecer cáncer o enfermedades cardiovasculares.

El estrés nutricional provoca en los lechones un bajo reemplazamiento de las células de las vellosidades debido a la diarrea secretora y la atrofia del timo que reduce la producción de citocinas y linfocitos en lo que el sistema inmune está en baja forma.

Cuando hay otras infecciones concomitantes, que es lo normal, las funciones

de barrera intestinal para los patógenos disminuyen (*E. coli* ETEC) y en el caso del virus PRRS hay alteraciones del desarrollo inmune y también con el virus PCV-2.

» Etiología

El es un bacilo Gram +, anaerobio estricto, esporulado y resistente a múltiples antibióticos. Puede ser habitual en el tracto gastrointestinal de los animales y las personas. Algunas cepas son móviles por la presencia de flagelos peritricos. Una de sus características más importante es la formación de esporos, esta estructura le da una gran resistencia a las condiciones ambiente, le permite permanecer durante meses en la superficie del suelo y en el utillaje de la granja. Los únicos desinfectantes capaces de controlarlo son los derivados del cloro (Cloramina T a razón de 4 gramos por litro).

La temperatura óptima de crecimiento es de 30° a 37° C (in vitro). El en el 2002 se clasificó como clostridio asociado a enfermedades que provocan diarrea por antibióticos.

» Patogenia de la enfermedad

La patogenia de la enfermedad es compleja y se pueden distinguir las siguientes etapas:

- Alteración de la flora bacteriana habitual del colon (provocada por los antibióticos).
- Colonización por el *Clostridium difficile*.
- Liberación de dos histotoxinas producidas por el que actúan en el intestino.

La patogenia está dirigida al intestino, los esporos se ingieren y germinan dando células vegetativas. En presencia de la flora normal intestinal no es capaz de reproducirse y producir toxinas, por lo que en ese momento no origina ninguna acción patógena, cuando hay unas determinadas condiciones en el ambiente se produce la germinación. Las patologías entéricas asociadas al se dan cuando hay una grave alteración asociadas al Cd de la MIP, normalmente por el exceso de medicación antibiótica.

El proceso se inicia cuando hay un crecimiento excesivo del en el intestino, colonizando la mucosa CD intestinal para posteriormente dañar los enterocitos y al final provocar la diarrea que hará enfermar al lechón.

La colonización se produce por la ingestión de esporas del microorganismo, estas son resistentes al calor. Pueden persistir en el medio ambiente durante meses e incluso años y sobreviven en el medio ácido del

estómago. Las esporas del Cd se convierten en formas vegetativas al llegar al colon y elaboran toxinas que actúan sobre el epitelio intestinal, provocando diarrea y colitis. Hay algunas cepas de este clostridio que no producen toxinas en las pruebas in vitro.

Los síntomas principales en los lechones son los siguientes:

- Diarrea líquida típica amarillenta-anaranjada.
- Deshidratación grave. Emaciación.
- Anorexia, no van a mamar.
- Fiebre.
- Lechones afectados de 3 a 5 días de vida.
- Ascitis. Disnea.
- A veces estrés respiratorio.
- Distensión abdominal.



Fotos del autor.

» Ciclo epidemiológico

El *C. difficile* habita en el tracto intestinal de los animales (entre ellos el cerdo) y del hombre. Se elimina al exterior tanto en la forma vegetativa como en forma de esporo junto con las heces del animal colonizado. Una vez en el ambiente, solo el esporo es capaz de resistir las condiciones aerobias que encuentra.

La vía de transmisión es la fecal – oral desde un lechón enfermo o portador asintomático a un individuo sano con la MIP alterada. Las condiciones adversas del ambiente las resiste en forma de esporo. Una vez ingerido, si las condiciones intestinales permiten la colonización, el microorganismo se multiplica exponencialmente secretando grandes cantidades de toxinas TcdA, TcdB y/o toxina binaria provocando el daño en el hospedador. La gravedad de la infección está relacionada con la concentración de anticuerpos frente a las toxinas que presenta el hospedador.

» Diagnóstico

Las muestras a tomar son hisopos rectales de los lechones afectados con diarrea y muestras de heces para cultivo y aislamiento en el laboratorio de microbiología.

A partir de éstas se hacen frotis y tinción directa por lo que se pueden observar bacilos Gram + compatibles con Clostridios. La siembra hay que hacerla en medios de cultivo donde este microorganismo se pueda identificar claramente.

En este proceso es de gran ayuda la histopatología del intestino, las lesiones observadas son bastante patognomónicas y completan el diagnóstico microbiológico. Estas están circunscriptas al intestino con edema en el mesocolon, en la lámina propia y con lesiones tipo volcán en los casos más graves. Aplanamiento de los enterocitos,



Fotos del autor.

exudación local de mucus, fibrina, infiltración masiva de neutrófilos, enteritis y en algunos casos hemorrágica. El estómago aparece vacío y a veces hay hidrotórax.

En las heces diarreicas o en el megacolon tóxico se puede hacer un análisis de laboratorio para detectar las toxinas TcdA o TcdB, éstos se pueden hacer por EIA (inmunoadsorción enzimática).

También se puede hacer una PCR a tiempo real con las heces de los lechones como alternativa a la detección de las toxinas. Este método tiene una alta sensibilidad y especificidad.

El aislamiento del Cd supuso un reto debido a su escasa capacidad de competencia frente a otros organismos de la flora intestinal, por eso se le denominó *difficile* (difícil en latín) por lo mucho que les costó su aislamiento y caracterización a los primeros microbiólogos que trabajaron en éste área.

El *Clostridium difficile* está presente en una alta proporción en la cabaña porcina española, principalmente en cerdos neonatos de 1 a 5 días de edad. El microorganismo se ha encontrado en lechones con o sin diarrea, por lo que hay una gran cantidad de lechones portadores asintomáticos.

» Bibliografía

1. LAMANA, J.M. ROTAVIROSI EN LECHONES LACTANTES. AVANCES TEC. POR. VOL III. 2006.
2. LAMANA, J.M. UN CASO CLÍNICO DE INFECCIÓN POR EL VIRUS DEP EN UNA GRANJA PORCINA FASE 1 Y 2. REVISTA CRIA Y SALUD N° 28, 2009.
3. LAMANA, J.M. ENFERMEDAD DE LOS EDEMAS EN LECHONES DESTETADOS EN UNA GRANJA EN FASE 1 Y 2. AVANCES TEC. POR. VOL V, 2008.
4. DEL CURA, A. COCCIDIOSIS EN CERDOS. REVISTA CRIA Y SALUD N° 21, 2008.
5. DEL CURA, A. INFECCIONES POR E. COLI EN CERDOS. REVISTA CRIA Y SALUD N° 23, 2008.
6. HOPMAN, N.E. Y COLS. ACQUISITION OF CLOSTRIDIUM DIFFICILE BY PIGLETS. VET. MICROBIOL. 149, 2011.
7. MASARIKOVA, M. Y COLS. CLOSTRIDIUM DIFFICILE – ASSOCIATED DISEASE (CDAD) IN CZECH PIGLET PRODUCTION: FIRST REPORT. IPVS 20°, 2008.
8. MASARIKOVA, M. Y COLS. PREVALENCE OF C. PERFRINGENS CPB-2 POSITIVE ISOLATES TYPE A AND C FROM PIGLETS WITH NEONATAL DIARRHOEA. IPVS 20°, 2010.
9. LANTZ, R. Y COLS. B. LICHENIFORMIS FOR C. PERFRINGENS CONTROL IN SOWS. IPVS 21°, 2010.
10. HARVEY, R.B. Y COLS. EPIDEMIOLOGIC SURVEY FOR CLOSTRIDIUM DIFFICILE IN A INTEGRATED SWINE OPERATION. IPVS 21°, 2010.