



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA
Y ZOOTECNIA

MONITOREO DE HECES PORCINAS PARA LA
IDENTIFICACIÓN DE *Brachyspira spp.* EN CERDOS
DEL ESTADO DE SONORA

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

PRESENTA

JESÚS MUNGUÍA ROSAS

Asesores:

MVZ, Ph.D., Cert. Pedro Juan Bautista Fernando de la
Salle Pradal Roa

MVZ, EPA, M.Sc., Ph.D. Enrique Corona Barrera



México, D.F.

Enero 2008



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

DEDICATORIA

A mis padres por todo el apoyo que me han brindado durante el tiempo que hemos estado juntos, gracias de verdad.

A las familias Pérez González, Bautista Bello y Benítez Gómez, por su amistad, cariño y apoyo.

A mis amigos de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la UNAM por todos los momentos que hemos compartido y por su apoyo incondicional,
¡MIL GRACIAS!

A mis amigos del CIESA-UAEM y de la FMVZ-UAEM que me ayudaron e hicieron mi estancia más agradable.

A mis amigos de la Facultad de Ciencias de la UNAM.

A mis amigos del CCH- Azcapotzalco y a todos los conocidos de esa época.

A todas aquellas personas que me consideran su amigo.

Al Dr. Pedro Juan Bautista Fernando de la Salle Pradal Roa, por su confianza y apoyo brindado antes, durante y después de la realización de éste trabajo

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Nacional Autónoma de México, por la oportunidad de formar parte de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia.

A los académicos y alumnos del Centro de Investigación y Estudios Avanzados en Salud Animal (CIESA) de la Universidad Autónoma del Estado de México (UAEM), por las facilidades prestadas para la realización de este estudio.

Al Dr. Enrique Corona Barrera y al Dr. Pedro Pradal Roa, por la confianza y apoyo.

Al MVZ M.Sc. Raúl Fajardo Muñoz por su apoyo en la histopatología.

Al MVZ Fermín Jiménez Flores por al apoyo en al área de bacteriología.

A los miembros del jurado por su tiempo y sugerencias realizadas:

- MVZ MC José Ramírez Lezama
- MVZ MC Esperanza Galván Pérez
- MVZ MPA Alejandra Mercadillo Sierra
- MVZ MC Orbelín Soberanis Ramos

A los médicos veterinarios y porcicultores del estado de Sonora y Sinaloa por las facilidades prestadas durante la etapa de muestreo del presente trabajo.

Al MVZ Luis Fernando Rodríguez y MVZ, EPA Zulma Mendoza Esquer por el apoyo en la fase de muestreo.

A Erika por alentarme a seguir y por apoyarme.

A Guadalupe de la FES-I, por los regaños, observaciones y sugerencias.

A *Novartis Animal Health* por financiar parcialmente este estudio.

CONTENIDO

	Página
RESUMEN	1
CAPÍTULO 1: INTRODUCCIÓN	
1.1 Características de la porcicultura mexicana.....	2
1.1.1 Importancia de las enfermedades entéricas.....	3
1.1.2 Prevalencia de algunas enfermedades entéricas.....	4
1.1.3 Periodos críticos en la producción de cerdos	6
1.2 Taxonomía y características de Espiroquetas Intestinales.	10
1.2.1 Especies del género <i>Brachyspira</i>	13
1.2.2 <i>Brachyspira hyodysenteriae</i>	14
1.2.3 <i>Brachyspira innocens</i>	15
1.2.4 <i>Brachyspira pilosicoli</i>	16
1.2.5 <i>Brachyspira intermedia</i>	17
1.2.6 <i>Brachyspira murdochii</i>	18
1.2.7 <i>Brachyspira pulli</i>	18
1.2.8 <i>Brachyspira alvinipulli</i>	19
1.2.9 <i>Brachyspira canis</i>	19
1.2.10 <i>Brachyspira suanatina</i>	20
1.3 Asociación y causas de enfermedades entéricas	20
1.3.1 Disentería Porcina	23
1.3.2 Espiroquetosis Colónica Porcina	34
1.4 Técnicas de diagnóstico para Espiroquetas Intestinales	38

1.4.1 Cultivo en medio sólido	39
1.4.2 Cultivo en medio líquido	40
1.4.3 Caracterización fenotípica	41
1.5 JUSTIFICACIÓN	44
1.6 HIPÓTESIS.....	45
1.7 OBJETIVOS	45
CAPÍTULO 2: MATERIAL Y MÉTODOS	
2.1 Muestreo.....	46
2.1.1 Colección de muestras de heces.....	47
2.2 Técnica de necropsia.....	48
2.2.1 Apertura del cadáver	48
2.2.2 Estudio de los órganos de cavidad abdominal.	48
2.2.3 Estudio de los órganos de cavidad torácica	49
2.2.4 Colección de muestras de tejido intestinal.....	50
2.3 Obtención de información de la producción en las granjas	51
2.4 Procesamiento de las muestras de heces en el laboratorio	51
2.4.1 Preparación del medio selectivo <i>Brachyspira Selective Medium</i> (BSM) .	51
2.4.2 Preparación del compuesto de antimicrobianos	52
2.4.3 Preparación de placas	52
2.5 Aislamiento e identificación de <i>Brachyspira spp.</i>	53
2.5.1 Procedimiento de sembrado	54
2.6 Histopatología	55
2.6.1 Técnica de tinción Warthin-Starry	55
2.7 Análisis epidemiológico	56

CAPÍTULO 3: RESULTADOS	
3.1 Aislamiento e identificación de <i>Brachyspira spp.</i>	58
3.2 Análisis histopatológico	61
3.3 Tinción Warthin Starry	69
3.4 Análisis epidemiológico	70
CAPÍTULO 4: DISCUSIÓN	72
CAPÍTULO 5: CONCLUSIONES	86
ANEXOS	88
REFERENCIAS	110

LISTA DE CUADROS Y FIGURAS

	Página
Cuadro 1: Diagnóstico diferencial de las enfermedades entéricas del cerdo	8
Figura 1: Clasificación filogenética del orden <i>Spirochaetales</i>	10
Cuadro 2: Especies de Espiroquetas Intestinales identificadas	13
Cuadro 3: Tiempo de supervivencia de <i>Brachyspira hyodysenteriae</i>	28
Cuadro 4: Factores de virulencia de <i>Brachyspira spp</i>	30
Cuadro 5: Caracterización bioquímica-fenotípica de EI.....	42
Cuadro 6: Esquema de muestreo	47
Cuadro 7: Concentración de antibióticos de las placas BSM	53
Cuadro 8: Muestras que desarrollaron crecimiento característico de EI.....	60
Cuadro 9: Tipo, número y porcentaje de lesiones microscópicas observadas en las laminillas de colon teñidas con HE.....	68
Cuadro 10: Diagnósticos morfológicos y resultados de la observación de las laminillas teñidas con WS	69

RESUMEN

MUNGUÍA ROSAS JESÚS. Monitoreo de heces porcinas para la identificación de *Brachyspira spp.*, en cerdos del estado de Sonora (Bajo la dirección de: MVZ, Ph.D. Cert. Pedro Pradal Roa y MVZ, EPA, M.Sc. Ph.D. Enrique Corona Barrera).

Dado que la epidemiología de Espiroquetas Intestinales (EI) en México es desconocida y que las infecciones causadas por EI son de relevancia en la porcicultura de otros países; se realizó un estudio con el objetivo de demostrar la presencia o ausencia de EI en cerdos de 13 granjas del estado de Sonora y Sinaloa, muestreando 12 cerdos de 6-12 semanas de edad, por cada granja, las muestras de heces fueron colectadas directamente del recto mediante hisopos, que se inocularon en tubo estéril con 1.0 ml de medio Infusión Cerebro Corazón suplementado con antibióticos y fueron enviadas al laboratorio. Además, se obtuvieron 3 muestras de tejido intestinal (colon), de cerdos con diarrea y retraso en el crecimiento por granja, que fueron preservadas en formalina amortiguada al 10.0%. Para el aislamiento de EI, una alícuota de las muestras se sembró en *Brachyspira Selective Medium* (BSM) por triplicado, se incubaron en anaerobiosis a 42°C por 7 días. De las 156 muestras inoculadas en BSM, se observó crecimiento característico de *Brachyspira* en 3 muestras (1.92%) observando cuerpos espiroquetales Gram negativos en preparaciones de frotis. No se logró identificar los especímenes por pruebas bioquímicas debido al pobre crecimiento en los subcultivos. En el 100% de los cortes teñidos con HE, el diagnóstico morfológico fue colitis linfoplasmocitaria y las lesiones fueron erosiones epiteliales, epitelios en fase cúbica, criptas dilatadas, hiperplasia de células caliciformes y la presencia de *Balantidium coli* y bacterias adheridas al epitelio. Se concluye la presencia de EI del género *Brachyspira* en cerdos del estado de Sonora durante octubre a diciembre del 2006 y las lesiones identificadas son compatibles con las causadas por *Brachyspira pilosicoli*.

CAPÍTULO 1: INTRODUCCIÓN

1.1 Características de la porcicultura mexicana

La porcicultura es la actividad pecuaria que se encuentra en primer lugar a nivel mundial en producción de carne con 99.7 millones de toneladas en el año 2006 y se estima que para el 2007 aumente a 103.3 millones de toneladas. La carne de cerdo fue la más consumida a nivel mundial en 2006 con 98.9 millones de toneladas y para 2007 se esperaba un consumo total de 102.3 millones de toneladas. México se ubicó en octavo lugar a nivel mundial en producción de cerdo en el 2006 con 1.2 millones de toneladas y en segundo en Latinoamérica después de Brasil; a su vez, México ocupó el octavo lugar a nivel mundial en consumo de cerdo en 2006 con 1.5 millones de toneladas consumidas.¹

En México existen 6 zonas productoras de cerdos distribuidas a lo largo del territorio nacional: **Noroeste**, zona de mayor tecnificación; **Noreste**; **Bajío**, zona con mayor concentración de cabezas; **Centro**; **Sureste**, donde predomina la porcicultura de subsistencia y la zona de la **Península de Yucatán**.²

En el 2005, los estados de la República Mexicana con mayor producción de cerdos fueron: Jalisco con 273,859 toneladas ocupando el primer lugar, el segundo lugar lo ocupó Sonora con 267,361 toneladas y el tercero Guanajuato con una producción de 134,087 toneladas.³

Actualmente la porcicultura es una actividad que tiende a concentrarse en grandes unidades de producción las cuales emplean tecnologías modernas en aspectos como sanidad, reproducción, genética, instalaciones y manejo en general. En México se observan básicamente tres diferentes sistemas de producción, caracterizados por su nivel tecnológico: el sistema tecnificado que se estima representa el 55.0% de la producción nacional; el sistema semitecnificado representa el 15.0% y el sistema de traspatio representa el 30.0%.⁴

1.1.1 Importancia de las enfermedades entéricas

Las enfermedades entéricas son la segunda causa de pérdida de peso de los animales y se encuentran entre las causas más frecuentes de enfermedad en las etapas de crecimiento y desarrollo en todo el mundo.⁵ Los brotes explosivos de enfermedades se han reducido en los últimos años, debido a que casi no hay contaminación hídrica por los cambios en las instalaciones y los sistemas de manejo de los animales, entre otros factores, sin embargo, han aparecido enfermedades entéricas insidiosas de baja mortalidad, las cuales reducen el peso de los animales.⁶

El cambio a granjas de alta sanidad, conjuntamente con la mejora de las técnicas de diagnóstico, han supuesto la “aparición” de nuevos procesos patológicos (o quizás “viejos” procesos patológicos que simplemente eran desconocidos hasta ese momento). Es posible que algunas enfermedades relevantes tal como sería la Disentería Porcina (DP), al disminuir su incidencia, pusiera de manifiesto otros procesos menos serios pero también menos conocidos como la infección con *Brachyspira pilosicoli* y *Lawsonia intracellularis*.⁷

La diarrea es la manifestación clínica de uno de los complejos más comunes de enfermedad en cerdos a nivel mundial. La diarrea puede ser definida como una disfunción en la absorción de agua y electrolitos,⁸ o el cuadro en el cual heces blandas a veces acuosas son eliminadas con mayor frecuencia de lo normal,⁹ o una condición en la que el contenido de agua en heces excede el 80.0%.¹⁰

Las enfermedades entéricas muestran un amplio espectro de signos clínicos desde heces blandas por pocos días en animales clínicamente sanos, hasta diarrea profusa con deshidratación y un rápido decremento de la condición corporal.^{11,12} El contenido intestinal

puede variar de mucoide a hemorrágico o necrótico y en algunos casos la enfermedad puede ocasionar la muerte rápidamente sin la apreciación de signos clínicos.¹³

La diarrea puede aparecer ocasionalmente en un solo individuo de la granja, pero más comúnmente ocurre afectando a varios animales y en más de una ocasión.^{14,15} El impacto económico es substancial por el incremento en la tasa de mortalidad, pobre crecimiento y costos de medicación adicionales.¹⁶ Subsecuentemente las fallas en las medidas de bioseguridad e higiene pueden incrementar el riesgo de transmisión de enfermedades infecciosas.^{7,17}

La diarrea y las enfermedades entéricas en cerdos también tienen otras implicaciones para la sociedad.^{18,19} Primeramente, algunas de las enfermedades entéricas son zoonosis y pueden ser transmitidas al humano por contacto directo o por contaminación del ambiente, alimento y productos alimenticios,²⁰ en segundo término por el desarrollo de resistencia (de los microorganismos causales) contra antimicrobianos y eliminación de sustancias al ambiente debido al uso de antibióticos.¹⁸ Por último el impacto ambiental en relación a la eliminación excesiva de nitrógeno y fósforo en las heces.²¹

1.1.2 Prevalencia de algunas enfermedades entéricas

Las enfermedades entéricas son indudablemente un gran problema en la producción de cerdos, pero la prevalencia real de enfermedades diarreicas es difícil de interpretar debido a que normalmente se clasifican como procesos patológicos diferentes.²²

Una de las primeras enfermedades entéricas descritas en cerdos fue la salmonelosis,²³ sin embargo el número de agentes infecciosos conocidos y otras causas no infecciosas continúan incrementándose.^{24,25}

En un estudio realizado en Dinamarca sobre causas de mortalidad de una población de 12,481 cerdos de 3 granjas, se encontró que 5.6% de los cerdos lactantes, 25.5% de los destetados y 5.5% de los cerdos en crecimiento y finalización tenían diagnóstico *postmortem* de enfermedad gastrointestinal.²⁶ Otro trabajo realizado en Dinamarca con 98 granjas de finalización fueron detectados signos clínicos de diarrea en 0.31% de los cerdos.²⁷ En España 30.4% de los cerdos en 15 de 24 granjas fueron seropositivos a *Lawsonia (L.) intracellularis*²⁸ y en Argentina, 19.8% de los cerdos en 15 de 22 granjas estudiadas fueron también positivos a *L. intracellularis*.²⁹

En 1999, 50.5% de los cerdos en 105 granjas revisadas en Inglaterra, tenían antecedentes de enfermedades entéricas en los últimos tres años, las causas se identificaron como colitis infecciosa en 34.3% de los casos; DP en 10.0% y Enteropatía Proliferativa Porcina (EPP) en 3.8%.¹⁷ Un estudio realizado en la República Checa, Hungría y Polonia para detectar la prevalencia de *Brachyspira spp.*, y *L. intracellularis* en cerdos de 22 granjas sin signos de diarrea, se encontró que *L. intracellularis* estaba presente en 31.8% de las granjas muestreadas; *Brachyspira (B.) hyodysenteriae* en 9.1%; *Brachyspira pilosicoli* en 40.1% y otras especies del género *Brachyspira* en 86.4%.³⁰ En otro estudio realizado en cerdos con evidencias de diarrea y sin antecedentes de medicación provenientes de 31 granjas, se observó una prevalencia de *B. hyodysenteriae* de 45.0%; *B. pilosicoli* en 61.0% y *L. intracellularis* en 93.0% de los animales en las granjas monitoreadas, además de que en el 19.35% de los cerdos se encontraron co-infecciones de los tres patógenos mencionados.³¹ En el Reino Unido se reportó que el 60.0% de los cerdos en 44 granjas estudiadas estaban colonizados por al menos una especie de *Brachyspira* y otro enteropatógeno.³² En Dinamarca se determinaron los agentes causales de diarrea en cerdos de 6-7 semanas y se encontró que el 66.0% de los animales en las granjas monitoreadas eran positivos para *L.*

intracellularis y que la infección concomitante más común era ese patógeno (*L. intracellularis*) y *E. coli* observados en 63.0% de los casos. Otra infección mixta común fue *L. intracellularis* y Circovirus Porcino Tipo 2 (CVP2) en 60.0% de los casos, también se encontró una asociación con *Brachyspira spp.*, pero en proporciones muy bajas.³³ Un estudio publicado en el 2006, realizado para identificar los principales patógenos relacionados con mortalidad de cerdos en México, se encontró a *Salmonella enterica* en 48.0% de los casos y a *L. intracellularis* en 8.0%, como causas de mortalidad asociada a trastornos digestivos, otros patógenos importantes fueron el virus del Síndrome Reproductivo y Respiratorio del Cerdo (PRRS, siglas en inglés), *Mycoplasma hyopneumoniae* y CVP2.³⁴

1.1.3 Periodos críticos en la producción de cerdos

El periodo neonatal es particularmente riesgoso debido a que la protección de estos animales depende de la transferencia de anticuerpos maternos por medio del calostro y no es sino hasta la segunda semana de vida que los cerdos inician la producción de anticuerpos.^{35,36}

La diarrea neonatal causada por *E. coli*, *Clostridium perfringens* tipo C, o Coronavirus se ha observado durante la primera semana de vida.^{11,37,38} En algunos cerdos existe la presencia de esteatorrea, algunas veces referida como “diarrea blanca”, que es presumiblemente causada por el parásito *Isospora suis* o por la infección con Rotavirus.^{11,39} En Suecia la enfermedad es referida como “diarrea de las tres semanas” lo cual indica la edad en que los animales son afectados. En esta edad, la inmunidad materna tiende a disminuir mientras que las funciones inmunes propias se encuentran en desarrollo.^{9,36,40}

El siguiente periodo crítico en la vida del cerdo es el destete. La diarrea posdestete es una de las principales enfermedades a nivel mundial,⁴¹ la presentación se ve influenciada por factores predisponentes como la genética, alimentación, manejo e interacción con el ambiente.^{15,42,43,44} En años recientes la enfermedad referida como Espiroquetosis Intestinal Porcina (EIP) o Espiroquetosis Colónica Porcina (ECP) en cerdos en crecimiento causada por *Brachyspira pilosicoli* ha sido de importancia en los principales países productores de cerdos.^{45, 46, 47}

Durante el periodo de finalización, la importancia de las enfermedades diarreicas disminuye comúnmente. A la primera semana después de llegar a la unidad de finalización los animales pueden ser afectados por diarrea que es inducida por estrés durante el transporte, por la mezcla de animales o por factores ambientales como el agua contaminada. En algunos casos se presenta diarrea moderada que es considerada osmótica y que aparentemente no afecta la salud de los cerdos o el crecimiento, pero ninguna de éstas es considerada como problema grave. Sin embargo, brotes causados por ciertos patógenos entéricos pueden resultar en disminución de la producción, por ejemplo, la DP causada por *Brachyspira hyodysenteriae* es una enfermedad importante en cerdos de todas las edades^{13,48} y la salmonelosis una enfermedad zoonótica de importancia considerable.²⁰ Otras enfermedades entéricas que afectan a cerdos de todas la edades incluyen la Gastroenteritis Transmisible (GET), la Diarrea Epidémica Porcina (DEP) y en algunos casos la EPP enfermedad causada por *L. intracellularis*.³⁷

Debido a que el cerdo puede ser afectado por varios agentes enteropatógenos, en sus diferentes etapas del desarrollo, es esencial conocer las principales patologías para realizar un diagnóstico certero en caso de sospechar de espiroquetosis intestinal, en el cuadro 1 se

presentan las principales enfermedades entéricas del cerdo en sus diferentes etapas productivas.

Cuadro 1: Diagnóstico diferencial de las enfermedades entéricas del cerdo.

Etiología	Edad	Tipo de diarrea	Lesiones macroscópicas	Lesiones microscópicas
<i>Clostridium perfringens</i> Tipo C	1-14 días	Sanguinolenta	Necróticas y hemorrágicas con burbujas de gas	Necrosis de la mucosa, hemorragias
<i>E. coli</i>	1 día hasta posdestete	Acuosa, blanca o amarilla	Ingesta líquida, quilíferos blandos, edema de la pared intestinal y mesenterio	Ninguna excepto presencia de bacterias y congestión de la mucosa
Coronavirus	1 día hasta adultos	Acuosa (también vómitos)	Pared del intestino delgado adelgazada, quilíferos vacíos	Atrofia de vellosidades grave
Rotavirus	1 día hasta posdestete mayor frecuencia de 2-7 semanas	A menudo subclínica. “diarrea blanca” acuosa a pastosa	Ingesta líquida, quilíferos vacíos	Atrofia de vellosidades moderada
<i>Cryptosporidium spp.</i>	3 días hasta posdestete	Por lo común diarrea moderada	Dilatación de las asas intestinales	Atrofia de vellosidades nula o moderada
<i>Isospora suis</i>	Cerdos de 5-21 días (a veces mayores)	Acuosa, blanca o amarilla	Ingesta líquida, fibrina en intestino delgado	Atrofia de vellosidades, enteritis fibrinosa necrótica variable
<i>L. intracellularis</i>	Cerdos de 5 semanas, adultos jóvenes	Acuosa, mucoide y puede llegar a hemorrágica	Hiperplasia de la mucosa, necrosis y hemorragias variables en intestino delgado distal e intestino grueso proximal	Hiperplasia epitelial, necrosis y hemorragias variables

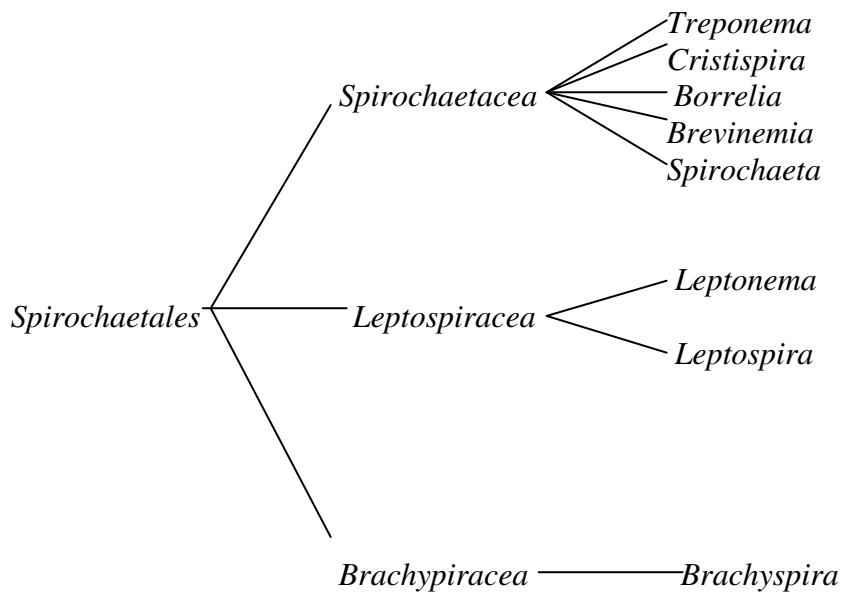
<i>Salmonella spp.</i>	Todas las edades después del destete	Variable, acuosa o mucoide, hemorrágica. Subclínica	Úlceras catarrales a fibrinosas o hemorrágicas, lesiones en el intestino delgado y/o grueso	Úlceras difusas o focales, infiltración de neutrófilos, trombos de fibrina
<i>Brachyspira hyodysenteriae</i>	Cerdos de 6 semanas hasta adultos	Mucoide a hemorrágica	Membranas fibrinosas, erosiones, úlceras, hemorrágicas, contenido mucoide en intestino grueso proximal	Erosiones, hiperplasia de células caliciformes, hiperplasia de las criptas
<i>Brachyspira pilosicoli</i>	Cerdos de 6 semanas hasta adultos	Diarrea moderada, consistencia similar a cemento húmedo con ocasionales estrías de sangre	Desde casi normal hasta incremento en la excreción de moco, edema, hemorragia y necrosis focal	Tiflocolitis con acumulo de neutrófilos y linfocitos. Espiroquetas adheridas al epitelio en tinciones de plata
<i>Oesophagostomum dentatum</i>	De destete hasta adultos	Moderada	Erosiones, edema, granulomas, necrosis predominante en ciego y colon proximal	Tiflocolitis granulomatosa con presencia de nematodos
<i>Trichuris suis</i>	De destete hasta adultos	Pastosa, mucoide a hemorrágica	Tiflocolitis, erosiones, parásitos visibles	Erosiones, ulceraciones e inflamación asociada a los nematodos
<i>Yersinia sp.</i>	6 semanas hasta los 4 meses	Pastosa	Enteritis moderada y/o colitis	Enteritis activa y/o colitis, micro abscesos, granulomas

Modificado de Thomson 2006.²⁵

1.2 Taxonomía y características de las Espiroquetas Intestinales

El orden *Spirochaetales* incluye a las tres familias: *Leptospiraceae*, *Spirochaetaceae* y *Brachyspiraceae*, esta última familia incluye al género *Brachyspira* formado por especies patógenas para animales y humanos, además de otras no patogénicas⁴⁹ (Figura 1).

Figura 1: Clasificación filogenética del orden *Spirochaetales*



Paster BJ and Dewhirst FE. 2000.⁴⁹

Las espiroquetas están conformadas por más de 200 especies, algunas de ellas son virulentas y otras son apatógenas para los hospederos. Por otra parte, muchas se encuentran viviendo en forma libre en el ambiente o forman parte del ciclo de dos hospederos. Muchas espiroquetas son incultivables, por lo que la identificación de esas bacterias es dependiente de métodos moleculares.⁴⁹

Las espiroquetas presentan forma helicoidal y son bacterias móviles que se caracterizan por su morfología única.^{49,50} La motilidad es proporcionada por flagelos periplásmicos, también conocidos como fibras periplásmicas, fibras axiales, filamentos o endoflagelos.⁵¹ Los flagelos periplásmicos son organelos internos de motilidad localizados entre la membrana externa y el protoplasma cilíndrico que encierra el citoplasma y la región nuclear.⁵² El flagelo se inserta en la parte subterminal de la célula, envuelve permanentemente el protoplasma cilíndrico y las otras terminaciones permanecen libres.^{52,53} Los flagelos periplásmicos pueden estar presentes desde 2 hasta cientos por célula, dependiendo de la especie de espiroqueta.⁵¹ Los flagelos son parte integral de la traslación, rotación y movimientos de flexión de las espiroquetas. La localización endonuclear permite el movimiento de rotación en un ambiente de alta viscosidad y arrastrarse en superficies sólidas como agar.⁵² La posesión de flagelos periplásmicos permite la motilidad a las espiroquetas intestinales en lugares con alta viscosidad o fluidos que inhiben el movimiento de microorganismos con flagelo externo.⁵²

Algunas espiroquetas son anaerobias pero aerotolerantes como *Brachyspira spp.*, otras anaerobias estrictas como *Treponema spp.*, y algunas microaerofílicas como *Borrelia spp.*, mientras que las especies del género *Leptospira* son aeróbicas obligadas.⁵⁴

Las espiroquetas pueden transformarse ellas mismas en esferas, un fenómeno reportado en ciertas especies de los géneros *Borrelia*, *Leptospira* y *Brachyspira*, la formación de esferas es en respuesta al deterioro de las condiciones ambientales,^{55,56,57,58} poseen afinidad a la tinción de Gram, tiñendo negativo y pueden ser fácilmente identificadas por su morfología helicoidal característica y movimientos de flexión y rotación observados en microscopio de campo oscuro o contraste de fases.^{52,59}

Las espiroquetas son organismos fastidiosos y muchas especies son incultivables como las del género *Cristispira*.⁵⁹ Afortunadamente, las técnicas moleculares han permitido la clasificación taxonómica de éstas bacterias,⁶⁰ además son uno de los principales grupos de bacterias en las cuales sus características fenotípicas reflejan su relación filogenética.⁵¹ La comparación de secuencias de genes 16S ADN indica que las espiroquetas constituyen un *Phylum* filogenético coherente.⁴⁹

La biodiversidad de espiroquetas se extiende desde el tracto intestinal de mamíferos, insectos y bivalvos hasta ambientes acuático marinos.⁴⁹ El nicho ecológico de todas las especies reconocidas del género *Brachyspira* es el tracto gastrointestinal bajo, donde éstas se encuentran situadas en estrecha relación con el epitelio de la mucosa. Las bacterias del género *Brachyspira* son anaeróbicas y pueden metabolizar pequeñas cantidades de Oxígeno por medio del gen *NADH oxidasa (NOX)*, el cual es esencial para la sobrevivencia de *Brachyspira spp.*, en el desafío de la difusión de oxígeno en el tejido intestinal.⁶¹

Las células de *Brachyspira* tienen forma de espiral; su longitud es de 2.0 a 14.0 μm , su amplitud entre 0.19 μm y 0.40 μm . El extremo de la célula puede ser abultado, acentuado o punteado dependiendo de la especie. El número de flagelos periplásmicos varía de acuerdo a la especie y puede ser de 4 a 14, lo cual es una característica morfológica usada para clasificarlas.⁶²

Las bacterias del género *Brachyspira* son cultivadas en medio sólido y medio líquido suplementado con sangre o suero. En medio líquido, la agitación continua es un prerequisite para el crecimiento.⁵⁵ Antimicrobianos (usados como suplemento) en medios de cultivo son necesarios para inhibir la microbiota residente del tracto intestinal y lograr el aislamiento de *Brachyspira spp.*, de muestras de heces o tejido intestinal.⁶³

1.2.1 Especies del género *Brachyspira*

La patogenicidad de algunas especies del género *Brachyspira* es poco conocida o controversial. Hasta la fecha siete especies de *Brachyspira* han sido caracterizadas actualmente y dos especies han sido propuestas y están en espera de una adecuada descripción.

Las especies del género *Brachyspira* actualmente descritas, sus hospederos y las patologías asociadas con cada una, son presentadas en el cuadro 2.

Cuadro 2: Especies de Espiroquetas Intestinales identificadas

Espece	Hospedero	Enfermedad	Referencia
<i>B. hyodysenteriae</i>	Cerdo Aves Patos	Disentería porcina Tiflocolitis Espiroquetosis	Harris, <i>et al.</i> , 1972 ⁶⁴ Jensen, <i>et al.</i> , 1996 ⁶⁵ Jansson, <i>et al.</i> , 2004 ⁶⁶
<i>B. intermedia</i>	Cerdos Aves de corral	Controversial Espiroquetosis Intestinal	Stanton, <i>et al.</i> , 1997 ⁶⁷ Griffiths, <i>et al.</i> , 1987 ⁶⁸ McLaren, <i>et al.</i> , 1997 ⁶⁹
<i>B. innocens</i>	Cerdo	Apatógena	Kinyon and Harris, 1979 ⁷⁰ Trott, <i>et al.</i> , 1996 ⁷¹
<i>B. murdochii</i>	Cerdo	Controversial	Stanton, <i>et al.</i> , 1997 ⁶⁷ Hampson, <i>et al.</i> , 1999 ⁷² Jensen, <i>et al.</i> , 2005 ⁷³
<i>B. pilosicoli</i>	Cerdo Aves de Corral Humanos Perro	Espiroquetosis Intestinal Porcina Espiroquetosis Colonica Porcina Espiroquetosis Intestinal Espiroquetosis intestinal Espiroquetosis intestinal	Trott, <i>et al.</i> , 1996 ⁴⁵ Duhamel, 1996 ⁷⁴ Stephens and Hampson, 2002 ⁷⁵ Shivaprasad and Duhamel, 2005 ⁷⁶ Trivett- Moore, <i>et al.</i> , 1998 ⁷⁷ Jensen, <i>et al.</i> , 2001 ⁷⁸ Duhamel, <i>et al.</i> , 1998 ⁷⁹ Fellström, <i>et al.</i> , 2001 ⁸⁰

<i>B. alvinipulli</i>	Aves de corral	Espiroquetosis intestinal	Swayne, <i>et al.</i> , 1995 ⁸¹ Stanton, <i>et al.</i> , 1998 ⁸²
<i>B. aalborgi</i>	Humano Primates no humanos	Espiroquetosis intestinal Espiroquetosis intestinal	Hovind-Hougen, <i>et al.</i> , 1982 ⁸³ Duhamel, <i>et al.</i> , 1997 ⁸⁴ Munshi, <i>et al.</i> , 2003 ⁸⁵
« <i>B. canis</i> »	Perro	Espiroquetosis	Duhamel, <i>et al.</i> , 1998 ⁷⁹ Johansson, <i>et al.</i> , 2004 ⁸⁶
« <i>B. pulli</i> »	Aves de corral	Espiroquetosis	Mc Laren, <i>et al.</i> , 1997 ⁶⁹ Philips, <i>et al.</i> , 2005 ⁸⁷
« <i>B. suanatina</i> »	Patos silvestres	Espiroquetosis	Råsbäck, <i>et al.</i> , 2007. ⁸⁸

Modificado de Fossi, 2006.⁶³

La especie más recientemente descrita como causante de enfermedad en cerdo y pato silvestre fue identificada en Suecia.⁸⁸ Además de las especies enlistadas en el cuadro, existen muchos aislamientos parcialmente caracterizados de *Brachyspira*, en muestras de tejido intestinal provenientes de varias especies animales. Espiroquetas semejantes a *Brachyspira* han sido observadas en gatos,⁸⁹ zorros,⁹⁰ cerdos de guinea,⁹¹ nutrias,⁹² caballos,^{93,94} mapaches⁹⁵ y venados silvestres japoneses.⁹⁶

Recientemente, nuevos filotipos de *Brachyspira*, han sido aislados de varias especies de aves silvestres, algunas de las cuales pueden ser confundidas con las bien conocidas especies del género *Brachyspira*.^{97,98,99}

1.2.2 *Brachyspira hyodysenteriae*

Esta espiroqueta inicialmente fue nombrada *Treponema hyodysenteriae*,⁶⁴ veinte años después con base a estudios de reasociación ADN:ADN, Electroforesis en Gel de Poliacrilamida Sulfato Duodecil Sódico (SDS-PAGE, siglas en inglés), perfiles de proteínas y análisis de la secuenciación del gen 16S ADN de la cepa de *T. hyodysenteriae*

indicaban que únicamente estaba relacionado muy distantemente con el género *Treponema*.¹⁰⁰ Consecuentemente, fue nombrado *Serpula*¹⁰⁰ y pronto después como *Serpulina*.¹⁰¹ Unos años más tarde, comparaciones ADN:ADN mostraron similitud entre el género *Serpulina* y *Brachyspira*, por lo que el primero fue homologado con el segundo.¹⁰²

Brachyspira hyodysenteriae es el agente etiológico de la DP y es la especie más estudiada de todas las EI.¹⁰³ Las células miden de 5.9-12.9 μm de largo y 0.29-0.40 μm de diámetro y tienen de 7-14 flagelos periplásmicos insertados en cada extremo de la célula distribuidos en dos hileras.¹⁰⁴ Se caracteriza por producir hemólisis β completa, bioquímicamente es positivo a la reacción de indol, productor de fructuosa y no tiene actividad de α -galactosidasa, éstas características han sido utilizadas para distinguir esta especie de otras EI, sin embargo, otras cepas de EI producen ocasionalmente hemólisis completa.¹⁰⁵

Algunos aislamientos de *B. hyodysenteriae* en Bélgica y Alemania han sido caracterizados con reacción de indol negativa.^{106,107}

1.2.3 *Brachyspira innocens*

Es una EI débilmente β -hemolítica, no patógena comensal del colon del cerdo.⁷⁰ Las células son de 5.3-14.1 μm de largo y 0.25-0.40 μm de diámetro con 7 a 14 flagelos periplásmicos.¹⁰⁴ Esta especie pueden ser diferenciada de *B. hyodysenteriae* por ser apatógena, producir débil β -hemólisis y su habilidad para fermentar fructuosa y ser indol negativa.⁷⁰

Es la especie más comúnmente aislada de cerdos¹⁰⁸ y aislamientos semejantes han sido fallidos al tratar de infectar experimentalmente a pollos.¹⁰⁹ Este organismo es no patógeno en cerdos convencionales⁷⁰ y dos aislamientos obtenidos de pollos en Australia fueron considerados de baja significancia patogénica.⁶⁹

1.2.4 *Brachyspira pilosicoli*

En 1993 se propuso un nuevo género y especie denominado provisionalmente “*Anguillina coli*”.¹⁰⁸ Estudios de reasociación del ADN y análisis de secuenciación del gen 16S rADN confirmaron que “*A. coli*” era un grupo genéticamente distinto.^{110,111} Sin embargo, por el alto grado de homología en la secuencia del gen 16S rADN entre los géneros *Serpulina* y *Anguillina* se sugirió que se homologaran a uno solo, de este modo *A. coli* se designó como *Serpulina pilosicoli*.⁴⁵ Mas tarde, el género *Serpulina* fue homologado con el género *Brachyspira* debido al grado de homología ADN:ADN¹⁰² y que este último ya se encontraba dentro de la taxonomía bacteriana de acuerdo a Houvind-Hougen.⁸³

B. pilosicoli posee una ultraestructura típica de *Brachyspira*, en la cual las células son en forma de serpiente y corta.^{45,62} Las células se tiñen débilmente Gram negativas y puede observarse al microscopio de contraste de fases y campo oscuro la motilidad y rotación.¹¹² Sin embargo, esta célula es menos larga y más delgada que la mayoría de los miembros del género, sus dimensiones son 5.2-11.0 μm de largo y 0.19-0.30 μm de ancho.¹¹³ En los extremos las células son punteadas en lugar de redondeadas como lo son *B. hyodysenteriae*, *B. innocens*, *B. intermedia* y *B. murdochii*.¹¹⁴

B. pilosicoli tiene menos flagelos periplásmicos, sólo de 4 a 7 insertados en los extremos de la célula. Los flagelos están acomodados en una sola hilera,^{108,110} en contraste con las especies previamente descritas que tienen de 7-14 flagelos por célula, acomodados en dos hileras.¹⁰⁸

Bioquímicamente se puede diferenciar *B. pilosicoli* de otras *Brachyspiras* por la reacción positiva a hidrólisis de hipurato, α -galactosidasa positiva y la ausencia de actividad de α -glucosidasa y β -glucosidasa.¹¹⁵ La producción de Indol es generalmente negativa aunque

existen reportes de algunos aislamientos Indol positivos de *B. pilosicoli* en humanos.^{116,117,118}

1.2.5 *Brachyspira intermedia*

Esta espiroqueta fue oficialmente aceptada en el género *Brachyspira* en el año 2006,¹¹⁹ después de realizar una comparación con los datos publicados por Stanton,⁶⁷ incluyendo propiedades fenotípicas, electroforesis enzimática *multilocus*, estudios de reasociación de ADN:ADN y similaridad en la secuenciación del gen 16S rARN.¹¹⁹

El nombre *B. intermedia* hace referencia a la posición intermedia bioquímicamente hablando que ocupa entre *B. hyodysenteriae* y *B. innocens*.⁶⁷ *B. intermedia* fue descrita después de un análisis de Electroforesis Enzimática Multilocus (MLEE, siglas en inglés) de una gran colección de espiroquetas intestinales aisladas de cerdos que reveló nuevos grupos que no correspondían a las especies previamente descritas.¹⁰⁸ Estudios de reasociación del ADN confirmaron esta nueva asignación.⁶⁷

Las células tienen 7-14 flagelos en cada extremo de la célula y tiene dimensiones de 6.1-10.8 µm de longitud por 0.30-0.40 µm de ancho.¹⁰⁴ No es posible distinguir a *B. hyodysenteriae* de *B. intermedia* por la dimensión de la célula, morfología o número de flagelos.⁶⁷

B. intermedia ha sido encontrada en cerdos y pollos. En cerdos el potencial patogénico de esta especie es controversial. El organismo ha sido aislado de cerdos con diarrea,^{115,120} sin embargo en la producción de pollos, el potencial patógeno de *B. intermedia* está confirmado, ya que el organismo ha sido aislado de granjas comerciales de aves de postura y pollos de engorda, con diarrea, baja postura y disminución del crecimiento.^{68,69,121}

1.2.6 *Brachyspira murdochii*

De la misma manera que *B. intermedia*, *B. murdochii*, fue reclasificada en el género *Brachyspira*, después de la comparación de las características previamente publicadas.¹¹⁹

Las investigaciones iniciales sobre *B. murdochii* ocurrieron concomitantemente con *B. intermedia*. Son células de 7.1-8.2 μm de longitud por 0.29-0.31 μm de ancho, con 7 a 14 flagelos periplásmicos en cada extremo de la célula.¹⁰⁴ La especie difiere bioquímicamente de *B. innocens* por la carencia de actividad de α -galactosidasa.^{67,122}

B. murdochii es comúnmente aislada de contenido intestinal de cerdos sanos, ratas silvestres y de laboratorio.⁷¹ Experimentalmente, la espiroqueta no logró colonizar a pollos de un día de edad,¹²³ aunque la infección experimental en cerdos no se ha desarrollado,⁷³ *B. murdochii* fue originalmente considerada como no patógena,⁶⁷ pero recientemente el aislamiento de este organismo de la articulación de la cadera de cerdos con cojeras demuestra la capacidad del organismo para penetrar a sitios extra intestinales.⁷³ Estudios recientes también han demostraron que los casos de cerdos con infección natural por *B. murdochii* podrían ser asociados a colitis.⁷²

1.2.7 “*Brachyspira pulli*”

Otro grupo de espiroquetas intestinales fue identificado en 1997, después del análisis MLEE, el cual no ha sido descrito completamente y su patogenicidad es incierta, mismo que fue designado provisionalmente como “*Brachyspira pulli*”.⁶⁹ Este grupo consiste en espiroquetas aisladas de aves en el Este de Australia y los países bajos, principalmente de hatos con problemas de producción.⁶⁹ De este grupo, un aislamiento fue medianamente patógeno cuando fue inoculado de manera experimental a pollos de engorda.¹²⁴ Esta

especie se caracteriza por ser débilmente hemolítica, pero las propiedades genotípicas y fenotípicas requieren aún mayor caracterización.⁶⁹

1.2.8 *Brachyspira alvinipulli*

El análisis MLEE de una colección de aislamientos de espiroquetas intestinales de aves reveló nuevamente grupos no descritos previamente.⁶⁹ Un grupo incluye dos cepas, aisladas de pollos con diarrea y tiflitis en los Estados Unidos.^{81,125} Este organismo fue subsecuentemente llamado *Brachyspira alvinipulli*.⁸² Esta espiroqueta débilmente β -hemolítica tiene un contenido de G+C de 24.6% y en promedio las células miden 8-11 μm de largo por 0.22-0.34 μm de ancho y tiene 11-15 flagelos en cada extremo de la célula. Bioquímicamente es positiva a la reacción de hidrólisis del hipurato, β -galactosidasa, indol negativa y α -glucosidasa positiva.^{81,82} La inoculación experimental con la cepa C1T causó diarrea moderada con deyecciones pálidas y daño intestinal con tiflitis leve.⁸⁵

1.2.9 “*Brachyspira canis*”

Este espécimen fue propuesto como nueva especie en el género *Brachyspira* después de encontrar que un grupo de aislamientos indol negativos de perro tuvieron distintas características a las observadas en *B. pilosicoli*.⁷⁹ Este estudio encontró que los aislamientos no amplificaban con *B. pilosicoli* específicamente en el gen 16S ARN por PCR y un nuevo grupo separado de otras EI fue identificado usando MLEE. La ausencia de unión de algunos de los aislamientos a células de ciego de pollo, y el subsiguiente aislamiento de *B. canis* de cachorros sanos hace pensar que el nuevo grupo fue un comensal no patógeno del colon del perro.^{79,126} Estudios moleculares de reasociación del ADN se requieren para la caracterización y designación de *Brachyspira canis* como miembro del género *Brachyspira* esperando futuras investigaciones

1.2.10 “*Brachyspira suanatina*”

Una serie de aislamientos atípicos presentes en Suecia y Dinamarca obtenidos de patos silvestres, que en cultivo producían β -hemólisis completa, aunque uno fue β -hemolítico parcial, pero resultó indol positivo, hipurato negativo, α -galactosidasa negativo y β -galactosidasa positivo. A través del análisis genotípico se detectaron diferencias con *B. hyodysenteriae*,⁸⁸ por lo que los autores proponen el nombre provisional de *Brachyspira suanatina* para identificar a los especímenes compatibles con esas características. Como parte de la caracterización de este nuevo aislamiento, los genes 16S rARN y *NOX* fueron secuenciados parcialmente, además se realizó la inoculación en cerdos destetados y se obtuvieron signos similares a DP, pero en menor grado de severidad comparado con la cepa de referencia de *B. hyodysenteriae* B204, la descripción de Råsbäck, *et al.*, aporta la primera información de la infección experimental de cerdos destetados con este aislamiento provisionalmente designado como *Brachyspira suanatina* a partir de pato silvestre.⁸⁸

1.3 Asociación y causas de enfermedades entéricas

Las enfermedades entéricas eran tradicionalmente vistas como enfermedades de un microorganismo,⁴⁸ aunque actualmente las enfermedades monofactoriales ya son raras en la industria porcina moderna, debido a la complejidad de las enfermedades entéricas en cerdos, en una granja porcina con casos de diarrea en las etapas de crecimiento y desarrollo, puede contemplarse la posibilidad de encontrar distintos patógenos implicados en infecciones mixtas,⁴⁴ lo cual puede alterar la presentación clínica del proceso y hacer que se produzca una respuesta pobre a las medidas de control establecidas. Además, hay que tener en cuenta que la expresión clínica de enfermedades entéricas puede estar modulada por factores propios del hospedador, incluyendo la susceptibilidad o resistencia genética a la

colonización por determinada bacteria, variaciones individuales en el *status* inmunitario,^{38,127,128} e interacciones con la microbiota simbiótica intestinal presente en el momento de la exposición al patógeno. Las propias condiciones de producción, factores ambientales como la temperatura y humedad, alimentación, nivel de higiene, presencia de otras enfermedades y el estrés, así como, prácticas de manejo como mezcla de animales de distintos orígenes y con distinto *status* sanitario e inmunológico incrementan la susceptibilidad.¹⁴

Una relación simbiótica existe entre el hospedero y la microbiota.¹²⁹ El hospedero se beneficia de diversos metabolitos producidos por microorganismos (protozoos), mientras que los microorganismos utilizan el intestino como fuente de nutrientes y otros requerimientos que facilitan su supervivencia y replicación. Los mecanismos para satisfacer las diferentes necesidades de microorganismos son particulares y variados entre especies. Por ejemplo, *E. coli* se une a ciertos receptores en el intestino delgado y a células epiteliales por medio de adhesinas (fimbria o *pili*).^{5,130} Las enterotoxinas bacterianas activan los sistemas Adenosina Monofosfato Cíclico (AMPC) y el Guanosina Monofosfato Cíclico (GMPc) causando diarrea secretora con excesiva pérdida de fluido y electrólitos.^{131,132,133} *Clostridium perfringens* tipo C tiene como blanco las células epiteliales del yeyuno y causa necrosis del tejido por secreción de toxinas α y β .^{38,134} En cerdos esta enfermedad normalmente ocurre en los primeros 2-3 días de vida, probablemente por el incremento del pH y la disminución del contenido de tripsina en el estómago además de que el contenido de inhibidores de la tripsina en el calostro de la hembra facilita la infección.^{38,134} Por su parte, Rotavirus e *Isospora suis* se replican en el citoplasma de las células epiteliales diferenciadas en el intestino delgado.¹³⁵ Los resultados

de la replicación son lisis y descamación de células infectadas con atrofia de las vellosidades, hiperplasia de las criptas, resultando en decremento de la digestión y absorción.¹³⁶ El grado y distribución de las lesiones son generalmente relacionadas a la edad y dosis infectante, sin embargo, la baja temperatura ambiental resulta en un incremento de las demandas de energía, lo cual contribuye al incremento de la mortalidad, además, la esporulación de *Isospora suis* es favorecida por el calor que se les proporciona a los lechones recién nacidos¹³⁷ y los oocistos pueden verse en heces cinco días después. Los anticuerpos calostrales no son protectivos contra estos patógenos, pero la inmunidad activa si hace resistentes a los lechones a inoculaciones subsecuentes.¹³⁸

Cambios recientes en la nomenclatura de *Salmonella* mencionan que la única especie patógena es *S. enterica* y todas las demás son serovariedades como *S. enterica* serovar *choleraesuis* y *Salmonella enterica* serovar *typhimurium*.¹³⁹

En la producción de cerdos la salmonelosis en particular *S. enterica* serovar *choleraesuis* es importante, ya que ocasiona enfermedad, mediante la invasión de tonsilas o intestino causando septicemia seguida por enterocolitis. Por su parte la serovariedad, *typhimurium* tiene una baja tendencia para invadir y es endocitada por células “M” localizadas en los linfonodos mesentéricos y lámina propia causando enterocolitis aguda.¹³⁹

La bacteria intracelular obligada *Lawsonia intracellularis* entra en los enterocitos de las criptas del yeyuno distal, íleon, ciego y colon proximal.¹⁴⁰ La bacteria se divide en el citoplasma y parece ser dependiente de la proliferación celular del hospedero.¹⁴¹ Además un incremento en la mitosis y división celular y proliferación de enterocitos inmaduros con depleción de células caliciformes son generalmente inducidos.^{142,143} Los enterocitos inmaduros no expresan el Complejo Mayor de Histocompatibilidad Tipo II (CMH II), en las moléculas de superficie, lo cual permite a la bacteria escapar al sistema inmune.

Considerando que hay factores que contribuyen en el desarrollo de enfermedad, se ha visto que ésta no puede ser reproducida en cerdos gnotobióticos, y se sospecha una acción sinérgica de otras bacterias.^{144,145}

Poca información se ha generado para entender la patogénesis de *Brachyspira pilosicoli* un agente patógeno que afecta a varios hospederos incluyendo al humano.¹⁴⁶ Sin embargo, se ha descrito el bloqueo de la absorción por esta espiroqueta y como células blanco a enterocitos maduros lo que podría explicar en parte el mecanismo de la diarrea.¹⁴⁷ La colitis causada por *B. pilosicoli* es caracterizada por observar una mezcla de poblaciones de neutrófilos y linfocitos en la mucosa como respuesta a la infección.^{47,147}

Por el contrario la patología causada por *B. hyodysenteriae* está documentada y es de las infecciones ocasionadas por EI de la que mayor conocimiento se tiene. Se menciona que la infección ocurre por vía oral, la bacteria invade las criptas y el *mucus* después de dos horas de exposición, el organismo es atraído por la mucina y se multiplica en células caliciformes y células epiteliales dañando la unión entre ellas.^{64,148} Además, una alteración en la microbiota intestinal es inducida por el alimento, alterando la tensión de oxígeno¹⁴⁹ o un cambio en la tasa de fermentación del intestino grueso resultando en una disminución del pH.¹⁵⁰ Por otra parte la microbiota simbiótica puede proveer factores de crecimiento, nutrientes esenciales o producir otras condiciones favorables. En adición, otros microorganismos como invasores secundarios pueden exacerbar las lesiones.⁴⁸

1.3.1 Disentería porcina

La DP es una enfermedad diarreica mucohemorrágica grave que afecta en forma primaria a los cerdos durante el periodo de crecimiento-finalización. Esta enfermedad también es

referida como disentería vibriónica, diarrea negra, mucohemorrágica o sanguinolenta y disentería sanguinolenta.^{103,151,152,153}

En un inicio *B. hyodysenteriae* no pudo desarrollarse en medio de cultivo líquido, por ello se usó medio de agar sólido. En 1974, Kinyon y Harris observaron la propagación del microorganismo en un medio líquido consistente en caldo tripticasa soya sin dextrosa pero con 10.0% de suero fetal, bajo condiciones de 80.0% de H₂ y 20.0% de CO₂.¹⁵⁴ Lemcke y Burrows en 1980, propagaron este microorganismo en un medio libre de suero que contenía albúmina sérica bovina y colesterol.¹⁵⁵ Otros medios útiles fueron descritos por Kunkle, *et al.*, en 1986¹⁵⁶ y también por Stanton y Lebo en 1988, quienes usaron 1.0 % de O₂ en la atmósfera de cultivo.⁵⁵ Kent, *et al.*, en 1988 describieron un simple aparato de frasco de laboratorio en el cual se demostró mayor crecimiento del microorganismo.¹⁵⁷ Kinyon en 1974,¹⁵⁸ Kinyon y Harris en 1979,⁷⁰ Lemcke y Burrows en 1981¹⁵⁹ compararon las características de cultivo de *B. hyodysenteriae* y de Espiroquetas Hemolíticas Débiles (EHD).

Las bacterias anaeróbicas naturales del colon y ciego son sinérgicas con *B. hyodysenteriae* haciendo más fácil la colonización y aumentando la producción de lesión.¹⁶⁰ No hay duda que *B. hyodysenteriae* es el único agente transmisible en brotes naturales de DP. Su habilidad para colonizar puede ser inhibida por la alimentación con dietas de alta digestibilidad en el intestino delgado, de modo que pocos sustratos fermentables alcancen el intestino grueso.^{161,162}

En 1982 Lysons, *et al.*, describieron tres aislamientos de *B. hyodysenteriae*, obtenidos de tres granjas porcinas diferentes del Reino Unido sin historia previa de DP, que carecían de patogenicidad para cerdos convencionales de experimentación.¹⁶³ Lee, *et al.*, en 1993

describieron otro aislamiento avirulento obtenido de cerdos en granjas de Australia.¹⁰⁸

Tanto los aislamientos británicos como australianos mostraron motilidad reducida.¹⁶⁴

En 1993, Maphoter, reportó que 11.0% de las granjas en los Estados Unidos estaban infectadas con *B. hyodysenteriae* basados en una prueba de ELISA.¹⁶⁵ Egan, *et al.*, determinaron con anterioridad por serología de suero recolectado en rastro que 40.0% de las piaras porcinas en Iowa, Illinois y Missouri estaban afectadas con DP.¹⁶⁶ En comparación Mapother indicó que 33.0% de las granjas de Iowa eran positivas a DP.¹⁶⁵ Sin embargo no hay estudios más recientes, pero es de consenso general que la DP es menos común en Estados Unidos, en parte por el rápido avance en los sistemas de producción, con el establecimiento del *status* de alta salud, producción multisitios y sistemas de destete temprano.¹⁰³ En contraste la enfermedad sigue siendo un problema relativamente común en Europa. En el Reino Unido se analizaron 98 granjas durante el periodo de 1997-1999 con problemas de colitis y se encontró a *B. hyodysenteriae* en 13.0% de los casos y formando parte de infecciones mixtas en 16.0% de los casos,¹⁶⁷ en Polonia muestras de heces de 8 de 23 (34.8%) granjas de cerdos con antecedentes de diarrea fueron positivas para *B. hyodysenteriae*.¹⁶⁸ Existe poca información sobre la prevalencia de DP en otras partes del mundo, aunque la enfermedad está presente y es causa de problemas intestinales, por ejemplo, en Tailandia se ha reportado un incremento en la DP en años recientes, posiblemente, como resultado de la regulación en el uso de antimicrobianos.¹⁶⁹

La DP es más común observarla en los cerdos de 15-70 kg, pero la enfermedad puede aparecer en adultos, en particular en cerdas criadas al aire libre. La transmisión de la enfermedad se produce en forma primaria por la ingestión de materia fecal tanto de animales con afección clínica como aquellos que parecen estar sanos a la revisión clínica y que son portadores de la enfermedad. La DP también fue transmitida por trabajadores de

granja que no cambiaron sus ropas o zapatos entre unidades de aislamiento que contenían cerdos enfermos y sanos.¹⁵³

La DP ocasiona gran pérdida financiera a causa de la mortalidad, disminución de la tasa de crecimiento, mala conversión alimenticia y gastos de quimioterapia.¹⁰³ Lysons en 1983, calculó que la medicación en el alimento para la DP puede costar de \$2.60 a \$8.60 dólares americanos por cerdo.¹⁷⁰ Wood y Lysons en 1988 demostraron que la tasa de eficiencia de conversión alimenticia en una granja es deteriorada por 0.58% como consecuencia de DP y tiene aumento del costo de medicación de \$2.40 y \$12.60 dólares americanos por cerdo vendido, aunque había cerdos con DP clínica en la piara, la pobre tasa de conversión alimenticia fue atribuida principalmente a la enfermedad subclínica.¹⁷¹ Walter y Kinyon encontraron que el costo de medicación en una piara infectada por DP fue de \$8.30 dólares americanos por cerdo comercializado y el costo de medicación reducido a \$0.08 dólares americanos por cerdo vendido después de la erradicación.¹⁷²

Las pérdidas nacionales totales de los Estados Unidos para la industria porcina fueron estimadas en \$115.2 millones de dólares americanos.¹⁷³ Una encuesta serológica en el Oeste de Australia indicó una prevalencia de 33.0%.¹⁷⁴ Taylor, en 1984 indicó que el 27.0% de las piaras productoras de cerdos estaban afectadas con la enfermedad.¹⁷⁵ Roncalli y Leaning reportaron que la DP estuvo presente en la mayoría de los países productores de cerdos del mundo.¹⁷⁶ Al parecer, continúa la prevalencia pero a una frecuencia reducida en la mayoría de los países.¹⁵³

En los casos de campo, la morbilidad de DP puede acercarse al 75.0% y la mortalidad puede ser de 5.0 a 25.0%.¹⁴⁸ La gravedad de las granjas con afección crónica puede ser leve y la enfermedad puede no presentar evidencias clínicas. Esta situación se debe a la protección alcanzada en los cerdos lactantes por la inmunidad transmitida de las madres

con afección crónica y el uso común de antimicrobianos en las raciones de destete y crecimiento. Bajo condiciones experimentales en las cuales los cerdos no son tratados, la mortalidad suele ser del 50.0 %.^{103,153}

El periodo de incubación es variable, teniendo un rango de 2 días hasta 3 meses, pero, la enfermedad, ocurre generalmente después de 10-14 días en exposiciones naturales.¹⁰³ Los signos clínicos de DP parecen producirse en forma cíclica ya que se ha observado que en cerdos éstos reaparecen en un intervalo de 3-4 semanas, la reaparición suele ocurrir después de la remoción de los niveles terapéuticos de antibióticos en el alimento o agua. Olson (1974) mostró que el tratamiento con niveles preventivos de arsenilato de sodio puede ser un factor en la prolongación del período de incubación.¹⁷⁷

Un factor muy importante en la transmisión de DP es que los cerdos recuperados pueden ser asintomáticos y excretar *B. hyodysenteriae* en heces. Songer y Harris en 1978, describieron que los cerdos asintomático pueden transmitir DP por 70 días a cerdos centinelas susceptibles. *B. hyodysenteriae* fue aislada de un perro que frecuentaba corrales de cerdos infectados con DP.¹⁷⁸ En forma similar, el microorganismo fue aislado de ratones de campo capturados en tres granjas en donde había cerdos infectados con DP.^{179,180} Hampson *et al.*, en 1991, aislaron *B. hyodysenteriae* de una rata salvaje que vivía en un corral.¹⁸¹

En forma experimental, Glock, *et al.*, mostraron que la inoculación oral con *B. hyodysenteriae* a perros y aves (estorninos) resultó en la diseminación fecal de *B. hyodysenteriae* durante 13 días y 8 horas respectivamente.¹⁸² Las moscas pueden transportar el microorganismo por lo menos 4 horas.¹⁵³ Los ratones con inoculación experimental excretan *B. hyodysenteriae* en heces por más de 180 días,¹⁸³ mientras que las ratas lo hacen por sólo 2 días.¹⁸⁴ Los cerdos convencionales expuestos a heces de ratones

infectados desarrollan signos clínicos de DP dentro de los once días después de la exposición a esas heces de ratón.¹⁸³ Chia y Taylor en 1978 demostraron que *B. hyodysenteriae* sobrevivía en heces disentéricas diluidas en agua por 61 días a 5°C.¹⁸⁵

En el siguiente cuadro se muestran los tiempos de sobrevivencia de *B. hyodysenteriae*, expuesta a diferentes condiciones, hospederos y temperaturas. (Cuadro 3).

Cuadro 3: Tiempo de sobrevivencia de *Brachyspira hyodysenteriae*

Localización	Condición	Temperatura (° C)	Tiempo de supervivencia
Cerdos	-	-	60 días
Ratones	-	-	1 año
Ratas	-	-	2 días
Perros	-	-	13 días
Heces:	Húmedo	7	60 días 7 días Hasta el aumento de temperatura 60 días
Fosas	Seco	18	
Enrejillado	Frío o Congelado	7	
Enrejillado		-	
Lagunas		-	

Harris, *et al.*, 1990.¹⁸⁶

El origen de la mayoría de las epizootias de DP pueden ser explicadas por cerdos portadores introducidos en alguna piara. Sin embargo, los brotes de la enfermedad también han ocurrido en piaras sin antecedentes de introducción de animales nuevos. Robertson, *et al.*, en 1992, encontraron una tasa elevada de riesgo relativo tanto para aquellas granjas que permiten visitas como para la presencia de roedores.¹⁸⁷ Otros factores que han contribuido a la presentación clínica de DP en cerdos infectados son estrés (incluyendo cambios de alimento), embarque, castración, hacinamiento o exposición a cambios extremos de

temperatura ambiental. La inoculación experimental por vía oral de cerdos con mucosa colónica de animales con presentación aguda de DP en estado de ayuno y estrés causo la formación de lesiones dentro de las 24 horas postinoculación.¹⁵³

Aunque *B. hyodysenteriae* puede ser vista en células epiteliales y en lámina propia en lesiones típicas, la invasión puede no ser esencial para la producción de lesiones.¹⁸⁸ El microorganismo es móvil por la presencia de flagelos periplásmicos lo cual es esencial para la virulencia.¹⁸⁹ *B. hyodysenteriae* es eficiente para moverse a través del material viscoso como moco y se demostró que es atraído hacia la mucina (glicoproteína del moco) por quimiotaxis,^{164,190} logrando con ello acercarse a las células epiteliales del colon.¹⁹¹ Knoop, *et al.*, y Bowden, *et al.*, demostraron la fijación de *B. hyodysenteriae* a células animales *in vitro* y concluyeron que las adhesinas ligadoras de *B. hyodysenteriae* para las células epiteliales intestinales de Henle cultivadas pueden contener residuos de ácido siálico.^{192,193} *B. hyodysenteriae* es capaz de reducir químicamente el oxígeno molecular a agua, ya que posee el gen *NOX*, el cual codifica para la síntesis de enzima NAD oxidasa.¹⁹⁴ Kennedy, *et al.*, en 1996 prepararon cepas *NOX* mutantes los cuales fueron menos patogénicas y parecieron tener menos habilidad para colonizar el colon de cerdos.¹⁹⁵

En un trabajo de patogénesis no se aclaró el mecanismo de destrucción tisular pero se describieron y caracterizaron dos toxinas (hemolisina y lipooligosacáridos) de *B. hyodysenteriae* que pueden jugar un papel en la producción de lesiones.¹⁵⁷ La hemolisina es citotóxica para varios tipos celulares y es un factor de virulencia para la enfermedad.¹⁹⁶ Lysons, *et al.*, demostraron daño a las células epiteliales de asas colónicas e ileales ligadas de cerdos libres de gérmenes inoculados con la hemolisina, el daño se produce después de 30 minutos a 1 hora, después del rompimiento de organelos celulares; la tumefacción y la eliminación de células se produjo después de 3 horas.¹⁹⁷ Por su parte, Muir, *et al.*, en 1992,

realizaron un trabajo definitivo sobre la importancia de la hemolisina siguiendo la clonación del gen de hemolisina (*tlyA*).¹⁹⁸ Hyatt, *et al.*, en 1994, produjeron mutantes *tlyA* encontrando que fueron capaces de colonizar cerdos pero no produjeron enfermedad.¹⁹⁶ En el caso de los lipooligosacaridos descritos tienen actividad endotóxica y efecto directo en las células epiteliales del colon¹⁹⁹ y pueden provocar una respuesta inflamatoria mediante la estimulación de la producción de Interleucina1 (IL-1) y Factor de Necrosis Tumoral (FNT).²⁰⁰

En el cuadro número 4 se enlistan los principales factores de virulencia del género *Brachyspira*.

Cuadro 4: Factores de virulencia de *Brachyspira spp.*

Factor	Propiedades	Referencias
Hemolisina	Lisis celular (mucosa de colon), lo que favorece la disponibilidad de nutrientes como fosfolípidos y esteroides, requeridos para crecimiento	Stanton and Cornell, 1987. ²⁰¹ Muir, <i>et al.</i> , 1992. ¹⁹⁸
Flagelo (motilidad)	Permite mantener la asociación con células de la mucosa del intestino, criptas y células caliciformes	Taylor and Alexander, 1971. ¹⁵¹ Rosey, <i>et al.</i> , 1996. ²⁰²
NADH oxidasa	Metaboliza oxígeno, permite la sobrevivencia de organismos anaeróbicos en tejidos que utilizan oxígeno como la mucosa de colon	Stanton and Jensen, 1993. ¹⁹⁴
Producción de Lipooligosacáridos	Material antigénico y endotoxinas en la pared celular bacteriana estimulan la respuesta inmune y la inflamación en el tejido del hospedero	Joens and Nuessen, 1986. ²⁰³ Joens, 1997. ²⁰⁴

Adhesión	<i>Brachyspira pilosicoli</i> es capaz de adherirse al epitelio del colon y causando lisis de microvellosidades; resultando en reducción de absorción de fluidos en el colon	Taylor, <i>et al.</i> , 1980. ²⁰⁵ Girard, <i>et al.</i> , 1995. ²⁰⁶
Quimiotaxis por mucina	Los organismos son atraídos por la mucina (proteína del moco) y estimulan la infección y la respuesta de las criptas y células goblet responsables de la producción de moco	Milner and Sellwood, 1994. ¹⁶⁴ Zhang, <i>et al.</i> , 2000. ²⁰⁷
Mecanismos de atracción de Hierro	Capacidad en el incorporar hierro del ambiente al citoplasma del organismo. Es reconocido como factor de virulencia en organismos Gram negativos	Li, <i>et al.</i> , 1995. ²⁰⁸

Walter, *et al.*, 2003.²⁰⁹

El microorganismo causal no invade más allá de la lámina propia del intestino grueso y la falta de *B. hyodysenteriae* y lesiones significativas en otros órganos implican que toda la patogenia de la enfermedad puede ser atribuida en forma directa a las lesiones entéricas.²¹⁰

La fisiopatología de la enfermedad fue estudiada por Argenzio, *et al.*, y Schmall, *et al.*, quienes concluyen que la diarrea no es el resultado de un aumento en la permeabilidad de la mucosa, pérdida de proteínas y líquido extracelular de la sangre a la luz por el aumento de la presión hidrostática tisular. En cambio, la pérdida de líquido parece ser resultado de la mala absorción colónica como una consecuencia de la falla del mecanismo de transporte epitelial al transporte activo de los iones de sodio y cloruro desde la luz hacia la sangre.^{211,212} Aun más, los niveles de Adenosina Monofosfato Cíclico (AMPC) y Guanosina Monofosfato Cíclico (GMPC) en la mucosa colónica de los cerdos infectados fueron normales, pero su respuesta a un estímulo (teofilina) fue marcadamente atenuada.^{211,212}

Estos estudios sugieren que una enterotoxina y/o prostaglandina liberada a la mucosa inflamada no está involucrada en la producción de diarrea, lo que demuestra que la patogénesis de la DP es diferente a la inducida por *E. coli* o *Salmonella spp.*^{103,153}

Los efectos sistémicos primarios de la DP típica son el resultado del desequilibrio de líquidos y electrolitos inducidos por la enteritis. Las pérdidas de líquido son sólo resultado de la falla del colon para reabsorber la propia secreción endógena. Dado que hasta 30.0-50.0% del volumen del líquido extracelular en la forma de secreciones endógenas se presenta a diario en colon para su absorción, la falla en absorción colónica es suficiente para explicar la deshidratación progresiva y muerte asociada a la enfermedad.^{103,153}

La diarrea es el signo más consistente de DP pero la gravedad puede ser variable. En ocasiones los animales se afectan de forma hiperaguda y mueren después de un periodo de sólo unas pocas horas con poca o ninguna evidencia de diarrea. La primera evidencia de la enfermedad en la mayoría de los animales suele ser la aparición de heces blandas, de color amarillo o gris. Puede evidenciarse anorexia parcial y aumento de temperatura rectal (40.0-40.5°C). Después de unas horas a pocos días de la infección hay grandes cantidades de *mucus* y con frecuencia estrías de sangre en heces. A medida que progresa la diarrea, se observan deposiciones que contienen sangre, *mucus* y eliminación de exudado muco fibrinoso con el consiguiente manchado de cuartos traseros de animales afectados. El arqueamiento de la espalda sugiere dolor abdominal. La diarrea prolongada conduce a deshidratación, lo que provoca sed y en pocos días los animales se deterioran tornándose emaciados, débiles y con incoordinación. La causa de muerte de la mayoría de los animales está asociada a deshidratación, acidosis e hiperpotacemia.^{103,153}

Una característica consistente de la enfermedad es la presencia de lesiones en el intestino grueso pero no en el intestino delgado.^{103,153} Los cambios típicos en los estadíos agudos de

DP incluyen hiperemia y edema de las paredes y el mesenterio del intestino grueso. La inflamación también puede inducir tumefacción de los linfonodos mesentéricos y formación de pequeñas cantidades de líquido ascítico claro. Las glándulas submucosas del colon con frecuencia son más prominentes que las normales y aparecen como focos blancos levemente elevados de la serosa. La mucosa por lo general esta cubierta con *mucus* y fibrina con estrías de sangre, el contenido colónico es exudado blando a acuoso.^{103,148,153}

Histológicamente, las únicas lesiones significativas se encuentran en el colon, ciego y recto. Las lesiones agudas típicas incluyen engrosamiento obvio de la mucosa y submucosa por la congestión vascular y extravasación de líquidos y leucocitos. También hay hiperplasia de células caliciformes y de la base de las criptas, las células epiteliales pueden estar alargadas e hipercrómicas en apariencia. Grupos de células epiteliales en la superficie luminal pueden separarse de la lámina propia en el curso temprano de la enfermedad, resultando en la exposición de capilares. Los cambios más tardíos incluyen acumulación de gran cantidad de fibrina, *mucus*, *detritus* celulares en las criptas de la mucosa y en la superficie luminal del intestino grueso. Las espiroquetas se encuentran en la luz y dentro de las criptas en todos los estadios de la enfermedad, pero son más numerosas en la fase aguda.^{103,148,153}

En el presente pocos son los fármacos efectivos contra *B. hyodysenteriae* y en años recientes se ha venido incrementando la evidencia del desarrollo de resistencia de *B. hyodysenteriae* a antimicrobianos como las pleuromutilinas.^{213,214} La tiamulina es recomendada a una dosis de 10mg/kg de peso corporal aplicada vía intramuscular durante 1-3 días, 8mg/kg de peso corporal por 5-7 días cuando es aplicada en agua de bebida, o en dosis de 100 ppm durante 7-10 días, seguida por 30-40 ppm por 2-4 semanas, mientras que la valnemulina se utiliza en dosis de 3-4 mg/kg de peso corporal por 1 a 4 semanas en el alimento.¹⁰³ Otros dos fármacos utilizados comúnmente contra *Brachyspira spp.*, son la

tilosina y la lincomicina, pero se ha reportado el desarrollo de resistencia reportados hacia *Brachyspira spp.*^{215,216,217,218,219} La resistencia a los macrólidos y las lincosamidas es causada por una mutación puntual en el gen 23S rARN y la resistencia a la tilosina se desarrolla en dos semanas *in vitro*.²²⁰

1.3.2 Espiroquetosis Colónica Porcina

La enfermedad en cerdos fue primeramente nombrada diarrea espiroquetal,²²¹ aunque el término para referir la condición patológica en cerdos ha cambiado en años recientes por Espiroquetosis Colónica Porcina (ECP),²²² o Espiroquetosis Intestinal Porcina (EIP).⁴⁵

La ECP se encuentra con frecuencia en cerdos en desarrollo, la cual se ha manifestado desde el implemento de estrategias de producción más intensivas, que han limitado otras enfermedades intestinales importantes como salmonelosis o la DP.⁷⁴ Es probable que por lo menos algunos de los casos de “colitis inespecífica” descritos en el Reino Unido puedan haber sido causados por *B. pilosicoli*, aunque también existen casos de colitis no infecciosa atribuible a factores de la dieta.^{223, 224}

El hallazgo histológico común en fases tempranas de ECP es la presencia de áreas focales de inflamación en el ciego, colon y recto, donde un gran número de espiroquetas pueden encontrarse adheridas por un extremo a la superficie apical del epitelio formando un falso borde de cepillo,^{206,221} esta característica ha sido encontrada en otros hospederos incluyendo humanos,⁷⁷ primates no humanos,²²⁵ perros,²²⁶ aves domésticas^{121,227,228} y varias especies de aves silvestres.^{97,229} Debido a que el aislamiento de *B. pilosicoli* de heces no siempre está relacionado con la presencia de diarrea o la adherencia al epitelio intestinal, la significancia de la identificación de la espiroqueta necesita ser interpretada en el contexto de una investigación diagnóstica completa.²³⁰

La ECP ha sido reportada en los principales países productores de cerdo, incluyendo Australia,^{108,231} Bélgica,^{106,231} Brasil,²³² Canadá,^{206,233} Dinamarca,²³⁴ Finlandia,²³⁵ Francia,²³⁶ Alemania,²³⁷ Corea,²³⁸ España,²³⁹ Suecia,²⁴⁰ el Reino Unido^{167,167} y Estados Unidos.^{241,242}

La epidemiología detallada de la ECP no ha sido totalmente determinada. Se cree que la infección ocurre por vía fecal/oral y la enfermedad puede ser facilitada en piaras no inmunes por la introducción de cerdos portadores. Además, de que *B. pilosicoli* puede persistir en el ambiente y la enfermedad puede recurrir entre lotes de cerdos si no se realiza una adecuada limpieza y desinfección.²⁴³ La infección ha sido demostrada en granjas Libres de Patógenos Específicos (SPF, siglas en inglés).²⁴⁴ Usando técnicas de cultivo, se ha demostrado que la prevalencia en corrales individuales varía entre el 5.0%²⁴⁴ y 37.5%.⁷⁴ Sin embargo, estas cifras pueden estar influenciadas por la administración coexistente de antibióticos, edad de los cerdos examinados, límites de detección del cultivo usado y grado de contaminación con otros microorganismos fecales que pueden inhibir el crecimiento de las espiroquetas. En Suecia *B. pilosicoli* se aisló en 6 de 8 piaras con signos de diarrea pero sólo en 1 de 11 sin signos clínicos.²⁴⁰ Puede aislarse *B. pilosicoli* a partir de cerdos en cualquier fase del período de crecimiento, pero la infección es más común y grave en cerdos destetados y en desarrollo entre 6 y 12 semanas de edad.²⁴⁵

B. pilosicoli es una especie genéticamente diversa.^{32,122,246} Probablemente existan cepas de *B. pilosicoli* con diferente potencial patogénico.^{247,248} Aunque está bien establecido que los roedores pueden ser vectores de *B. hyodysenteriae*, sin embargo, sólo existe un reporte de la infección natural de un ratón en vida libre con *B. pilosicoli*.¹⁸⁰

Se ha observado que los aislamientos de *B. pilosicoli* provenientes de cerdos, perros y humanos tienen estrecha relación genética,¹²² pero la evidencia directa de transmisión zoonótica sólo se ha demostrado entre perro y humano.¹⁴⁶ La colonización de humanos con

B. pilosicoli esta asociada usualmente con inmunosupresión, pobre higiene y contaminación fecal de agua como sucede en comunidades en desarrollo.^{249, 250}

La patogenia de la ECP se piensa que difiere de la DP de varias maneras importantes,²⁵¹ por ejemplo, las células de *B. pilosicoli* no son atraídas por la mucina de la misma manera que *B. hyodysenteriae*¹⁶⁴ y la infección está a menudo asociada con la presencia de grandes cantidades de espiroquetas unidas por un extremo de la célula a la superficie luminal de las células epiteliales colónicas y cecales y a menudo puede aislarse más de una especie del microorganismo de un solo corral de cerdos.²⁴⁶

Como sucede en la DP, para el caso de la infección por *B. pilosicoli*, puede estar influenciada por la dieta. Un análisis de factores de riesgo en granjas reveló que la prevalencia reducida pueden ser resultado del uso de dietas no pelletizadas.²⁵² Reduciendo el contenido de energía y proteína en la dieta también se pueden disminuir problemas clínicos.^{253,254} La adición de carboximetilcelulosa a la dieta de cerdos incrementa la viscosidad del contenido intestinal y aumenta la colonización con *B. pilosicoli*.²⁵⁵ Cerdos alimentados con dietas basadas en arroz cocido (altamente digestible y bajo en fibra soluble) muestran una colonización menor con *B. pilosicoli* que cerdos alimentados con dietas convencionales.^{256,257}

La infección oral es seguida por colonización de la mucosa colónica y el microorganismo puede demostrarse en hisopados fecales dentro de los 7 días postinoculación (dpi); sin embargo, el periodo de incubación puede llegar hasta los 20 días. En las etapas iniciales de la infección, células de *B. pilosicoli* se adhieren en grandes cantidades a la superficie de células epiteliales cecales y colónicas produciendo desaparición de microvellosidades y ruptura de la red citoplásmica terminal. La unión sólo tiene lugar en enterocitos maduros apicales de los extremos de las vellosidades, las espiroquetas no se unen a células

inmaduras dentro de las criptas intestinales.¹⁴⁷ La degeneración de células epiteliales produce un aumento de la tasa de mitosis en las células de la cripta, alargamiento de las criptas y producción de un epitelio inmaduro que consiste en células planas o cuboidales. La necrosis del epitelio es evidente como nódulos adherentes pequeños en la superficie de la mucosa.^{243,245}

Las células de *B. pilosicoli* se han observado dentro de criptas intestinales dilatadas,¹⁴⁷ invadiendo a través de las uniones firmes entre células epiteliales, dentro de las células caliciformes²⁴⁷ y dentro de la lámina propia.²⁵⁸ La presencia de *B. pilosicoli* dentro de las criptas y lámina propia se asocia con exocitosis neutrófila (abscesos de la cripta) y colitis caracterizada por edema, infiltrado mixto de neutrófilos y linfocitos dentro de la mucosa, lámina propia y de vez en cuando en capas de la muscular.^{243,245} En infecciones crónicas se observa infiltrado inflamatorio constituido por monocitos, linfocitos y células plasmáticas.²⁵⁸

La colonización del epitelio, invasión local y colitis resultante se combinan para causar un aumento en el contenido de agua cecal y digesta colónica, junto con la producción de un exceso de mucosidad y de vez en cuando manchas de sangre. El epitelio inmaduro o dañado resultante puede producir una reducción en la superficie del colon, en la absorción de ácidos grasos volátiles y la consecuente mala conversión de alimento y disminución en ganancia de peso.^{46,243,245,247}

Los primeros signos clínicos que tienden a ser observados son, reducción en el tamaño de los flancos y eliminación de heces blandas, pegajosas que se adhieren al suelo del corral. La consistencia de las heces cambia después dando apariencia de cemento húmedo en ocasiones brillante. La diarrea suele ser autolimitada y dura entre 2 y 14 días, aunque

algunos animales pueden recaer y desarrollar signos clínicos después de la convalecencia o el tratamiento.^{243,245}

Las lesiones macroscópicas asociadas a la ECP se limitan a colon y ciego, pueden ser sutiles en particular en fases tempranas de la enfermedad. El exámen *postmortem* poco después del comienzo de los signos clínicos revela a menudo un ciego flácido, lleno de líquido, y el colon con una superficie serosa, edematosa, linfonodos mesentéricos y colónicos aumentados de tamaño. Los contenidos son abundantes y acuosos, verdes u ocasionalmente amarillos y espumosos. La inflamación en las fases más tardías puede producir colitis ulcerativa multifocal o mucohemorrágica.^{243,245}

En cuanto a las lesiones microscópicas se ha descrito colitis catarral multifocal, erosiva o ulcerosa,^{259,260} por lo general están confinadas a la mucosa y la submucosa, pero pueden extenderse a la muscular. La mucosa aumenta de espesor, está edematosa y en ocasiones hiperémica y se caracteriza por la presencia de criptas intestinales largas, dilatadas, llenas de mucosidad, restos celulares y células inflamatorias degeneradas. La dilatación capilar subepitelial es un hallazgo notable. La tasa mitótica de las células de la cripta aumenta, a menudo con la presencia de epitelio inmaduro, cuboide o plano en los extremos de las vellosidades. En los lugares en que el epitelio cilíndrico todavía está presente en la superficie del colon, se encuentra cubierto a menudo por una franja oscura de espiroquetas unidas por un extremo de la célula.^{243,245}

1.4 Técnicas de diagnóstico para EI

Numerosas técnicas han sido implementadas para la detección, identificación y tipificación de espiroquetas intestinales.

El microscopio de contraste de fases y campo oscuro fueron los métodos usados para el examen de EI a partir de 1970.²⁶¹ La identificación de EI fue desarrollada por medio de propiedades de tinción, tamaño, forma y tipos de motilidad. La visualización del organismo con tinción de Gram y una variedad amplia de tinciones para histopatología han sido desarrolladas, sin embargo por estos métodos no es posible diferenciar las EI ya que morfológicamente son muy similares. La determinación de la presencia de EI en preparaciones húmedas y frotis para microscopia de contraste de fases puede proveer una evidencia de infección, sin embargo, este método no permite la diferenciación entre varias especies de espiroquetas.²⁶²

Con la llegada del microscopio electrónico se pudo lograr una mejor caracterización de las especies del género *Brachyspira*, debido a la gran amplificación que brinda se puede lograr la enumeración de los flagelos periplásmicos.

El cultivo y la caracterización fenotípica han sido reconocidos como los métodos estándar más valiosos para la caracterización de una gran cantidad de especies bacterianas.

1.4.1 Cultivo en Medio Sólido

Las primeras técnicas de cultivo para *B. hyodysenteriae* en medio sólido, comprenden una serie de diluciones y filtrados por medio de membranas con un poro de 0.45 μm a partir de material colónico e hisopos con heces obtenidas del recto de los animales.^{70,152} Las muestras fueron crecidas en agar sangre de bovino u ovino incubados a 37-42°C en una atmósfera anaeróbica y examinados después de 3 días, observando el tipo de hemólisis que producían los aislamientos. Sin embargo el método de filtración fue en particular incómodo y la adición de antibióticos al agar sangre mejoró significativamente el diagnóstico de la DP.¹²⁰

El primer medio selectivo contenía Agar Trypticase Soya (TSA, siglas en inglés), sangre de bovino y 400µg/ml de espectinomicina, basado en la resistencia de 5 aislamientos de *B. hyodysenteriae* a niveles de 1000 µg/ml.²⁶³ Sin embargo el sobrecrecimiento de otros organismos intestinales en este agar dio la pauta para el desarrollo de otros medios de cultivo que contendrían otros antibióticos.²⁶⁴ Estos incluyen el medio CVSBA que contiene espectinomicina (400 µg/ml), colistina y vancomicina (25 µg/ml cada uno).²⁶⁴ El agar *Serpulina* con espectinomicina (800 µg/ml), colistina y vancomicina (25 µg/ml cada uno) y 1.0% de ribonucleato de sodio¹¹⁵ y el medio BJ con espectinomicina (200 µg/ml), espiramicina (25 µg/ml), rifampicina (12.5 µg/ml), vancomicina, colistina (6.25 µg/ml cada uno) y extracto de heces porcinas.²⁶⁵ La incubación a 42°C es reportada como un factor inhibidor de la microbiota.¹²⁰

En el aislamiento de otras espiroquetas intestinales diferentes a *B. hyodysenteriae* se han utilizado los mismos medios, sólo que la aparición del crecimiento es más lento y puede tomar más de 6 días.²⁶² La tasa de recuperación de *B. pilosicoli* en medio BJ es menor porque el medio contiene rifampicina y espiramicina, y algunos aislamientos han mostrado ser moderadamente sensibles a estos antibióticos.^{113,266}

En contraste los medios y las condiciones de aislamiento de espiroquetas intestinales humanas han sido poco desarrollados, el primer aislamiento de *B. aalborgi* fue desarrollado en TSA pre-reducido con 10.0% de sangre de becerro, conteniendo espectinomicina (400 µg/ml) y polimixina B (5 µg/ml).⁸³

1.4.2 Cultivo en Medio Líquido

Básicamente se han extrapolado todos los medios líquidos utilizados para *B. hyodysenteriae* para otras espiroquetas. Un medio líquido en base a Trypticase Soya (TSB,

siglas en inglés) con Suero Fetal Bovino (FCS, siglas en inglés), bicarbonato de sodio, cisteína, colesterol, glucosa y extracto de levaduras han sido utilizados, mantenido a una atmósfera de 10.0% CO₂, 90.0% N₂.¹⁵⁶ Este medio fue modificado por Lemke el cual le agregó glucosa y suero de conejo al TSB.²⁶⁷ Una modificación del medio TSB con 10.0% de suero fetal bovino.^{154,156} Otros medios de rutina son infusión cerebro corazón (BHIB, siglas en inglés) suplementado con 10.0% de FCS tratado con calor y 0.2% de glucosa.^{55,113} El crecimiento de aislamientos de *B. pilosicoli* a partir de heces de hombres homosexuales fue desarrollado en medio líquido.¹¹² Caldo Tioglicolato con la combinación FCS fue el que obtuvo el mejor crecimiento. Los caldos de cultivo de *B. aalborgi* han sido reportados en BHIB con 5.0% de suero fetal bovino.²⁶⁸ Más recientemente se desarrolló un medio selectivo de enriquecimiento para *B. aalborgi* de biopsias rectales y heces fue descrito en BHIB y TSB con 10.0% de FCS espectinomicina y rifampicina.²⁶⁹

1.4.3 Caracterización fenotípica

La morfología de las colonias de *Brachyspira spp.*, en agar sangre son idénticas. La producción de una fuerte β -hemólisis por *B. hyodysenteriae* es una característica para identificar a este organismo, aunque, la confirmación de la identidad requiere otras medidas. Sin embargo, las EI no pueden ser diferenciadas por morfología colonial y es necesaria la caracterización bioquímica y molecular.

El esquema tradicional de identificación fenotípica incluye producción de indol, hidrólisis del hipurato, actividad de α -galactosidasa, y β -galactosidasa y α -glucosidasa, así como el tipo de hemólisis producida en agar sangre.¹¹⁵

La producción de indol puede ser medida con papel filtro y con el reactivo de Kovac,^{115,270} o por la adición de xilosa y el reactivo de Kovac al caldo de cultivo.¹¹⁰ La determinación de

la hidrólisis del hipurato puede ser determinada en caldo con 1.0 % de hipurato de sodio⁷⁰ o por el método de Ninhydrina,¹¹⁵ algunos autores han utilizado para medir las reacciones enzimáticas (α -galactosidasa, β -galactosidasa y β -glucosidasa) el sistema API ZYM (bioMérieux), el cual involucra una detección rápida de 19 enzimas.²⁷¹

En el cuadro 5 se resumen las características fenotípicas de las especies de EI.

Cuadro 5: Caracterización bioquímica-fenotípica de EI

Especie	Hemólisis	Indol	Hip	Flagelos	Actividad enzimática ⁰		
					α -gala	β -gala	α -glu
<i>B. hyodysenteriae</i>	C	+*	-	22-28	-	+/-	+
<i>B. innocens</i>	P	-	-	20-26	-	+/-	+
<i>B. pilosicoli</i>	P	- (v)	+	8-12	+/-	+/-	-
<i>B. intermedia</i>	P	+	-	24-28	-	+	+
<i>B. murdochii</i>	P	-	-	22-26	-	-	+
<i>B. alvinipulli</i>	P	-	-	22-30	-	-	+
<i>B. aalborgi</i>	P	-	-	8	-	-	-

Fuente: Modificada de Brooke (2003).²⁷²

Hip: Hipurato; α -gala: α : galactosidasa; β -gala: β -galactosidasa; α -glu: α glucosidasa.

C: Hemólisis β completa, P: hemólisis parcial, +: positivo, -: negativo, (v): variable, +/-: el resultado de esta puede ser negativo o positivo.

⁰Medidas con APY-ZYM

*: Cepas indol negativos han sido descritas por (Hommez *et al.*, 1998; Fellström *et al.*, 1999).

Fellström y Gunnarsson (1995), sugieren estas reacciones además de agregar la hemólisis por ser necesaria para la adecuada diferenciación de todas las EI. Dicha clasificación divide a EI en 6 grupos; grupo I consistiendo en *B. hyodysenteriae*, grupo II que fueron idénticos al grupo I pero son débilmente β -hemolíticos, grupo III que contiene tres subgrupos

incluyendo a *B. innocens*, mientras que el grupo IV fueron espiroquetas hemolíticas parciales asociadas con diarrea en cerdos.¹¹⁵

El análisis por MLEE y la secuenciación del gen 16S demuestran que esta agrupación tiene bases filogenéticas.^{108,115} Por lo que los grupos identificados son grupo II, *B. intermedia*; grupos IIIa, *B. murdochii* y IIIb, *B. innocens*, y grupo IV, *B. pilosicoli*.¹⁰⁸

1.4 Justificación

Dada la importancia de las enfermedades entéricas en explotaciones porcinas, su impacto negativo en los costos de producción, además de que las infecciones causadas por EI son de relevancia en la porcicultura de otros países y que la epidemiología de las EI en México se desconoce, se considera que un estudio epidemiológico es requerido para conocer qué especies de EI se encuentran en las zonas de importancia de producción de cerdos, en particular del estado de Sonora.

1.5 Hipótesis

Espiroquetas Intestinales del género *Brachyspira* se encuentran colonizando el tracto intestinal de cerdos en el estado de Sonora y son una de las causas de retraso en el crecimiento.

1.6 Objetivos

Objetivo general:

Demostrar la presencia o ausencia de EI por medio de aislamiento bacteriológico a partir de muestras de heces y tejido intestinal de cerdos criados en granjas de tipo comercial en el estado de Sonora.

Objetivos específicos:

- 1.- Aislar especímenes de EI en cultivo puro a partir de muestras de heces de cerdo de granjas comerciales del estado de Sonora.
- 2.- Identificar los especímenes de EI (género *Brachyspira*) aisladas por medio de características del cultivo (tipo de hemólisis) y perfil bioquímico.
- 3.- Determinar la frecuencia de Espiroquetas Intestinales en cerdos en las etapas de crecimiento y desarrollo de granjas muestreadas.
- 4.- Identificar las lesiones macro y microscópicas características ocasionadas por *Brachyspira spp.*, en las muestras de colon.
- 5.- Realizar análisis epidemiológico en el estado de Sonora de la información colectada en las granjas muestreadas.

CAPÍTULO 2: MATERIAL Y MÉTODOS

Para obtener acceso a las granjas, se les proporcionó una carta de invitación a los productores o responsables para participar en el presente estudio, agradeciendo de antemano su participación y facilidades prestadas para la obtención de muestras.

2.1 Muestreo

Para determinar el tamaño de muestra se utilizó un modelo epidemiológico considerando la prevalencia esperada y el tamaño de la población, al no existir reportes en la literatura científica sobre la prevalencia de EI en México la prevalencia esperada utilizada fue de 30.0% de acuerdo a los estudios realizados en otros países.

La fase de muestreo fue realizada durante octubre a diciembre de 2006. Se muestrearon cerdos de 13 granjas porcinas comerciales, de las cuales 12 se obtuvieron de granjas ubicadas en los municipios de Cajeme y Navojoa en el estado de Sonora y 1 granja en el municipio de los Mochis en el estado de Sinaloa. Se obtuvieron un total de 156 muestras (12 por granja) de heces de animales con historia clínica de trastornos gastrointestinales o que tuvieran diarrea y retraso en el crecimiento. Además, se obtuvieron 35 muestras de tejido intestinal (colon ascendente) de animales con pobre desarrollo, los cuales fueron eutanasiados y se les practicó necropsia o que habían muerto en un plazo máximo de 2 horas previas a la visita a la granja (Cuadro 6).

En cada granja visitada se aplicó una encuesta (Anexo1) para obtener información relevante sobre genética, reproducción, alimentación, manejo, sanidad y programas de bioseguridad en las diferentes etapas de producción.

Cuadro 6: Esquema de muestreo.

Granja	Fecha de muestreo	Ubicación (Municipio)	No. Muestras de heces	No. Muestras de tejido
1	17-10-06	Cajeme	12	3 Colon espiral
2	18-10-06	Navojoa	12	3 Colon espiral
3	19-10-06	Cajeme	12	3 Colon espiral
4	23-10-06	Cajeme	12	3 Colon espiral
5	23-10-06	Cajeme	12	3 Colon espiral
6	24-10-06	Cajeme	12	3 Colon espiral
7	24-10-06	Cajeme	12	3 Colon espiral
8	25-10-06	Cajeme	12	3 Colon espiral
9	26-10-06	Navojoa	12	3 Colon espiral
10	30-10-06	Mochis	12	3 Colon espiral
11	31-10-06	Cajeme	12	Sin muestras
12	13-11-06	Cajeme	12	2 Colon espiral
13	29-11-06	Navojoa	12	3 colon espiral

2.1.1 Colección de muestras de heces

- a) Las muestras fueron colectadas con hisopos de madera directamente del recto de animales de 6 a 12 semanas de edad, las muestras fueron inoculadas en tubo estéril con tapa de rosca que contenía 1 ml de medio Infusión Cerebro Corazón (ICC) (Oxoid, UK) suplementado con los antibióticos: Espectinomicina dihidroclorada 800 µg/ml (Sigma, USA), Colistina metano sulfonada 25 µg/ml (Sigma, USA), Vancomicina 25 µg/ml (Sigma, USA) y Rifampicina 27.5 µg/ml (Aventis, Mex.) con la finalidad de inhibir parcialmente la microbiota intestinal (en su trayecto antes de llegar al laboratorio) y favorecer el crecimiento de EI.
- b) Los tubos con las heces fueron identificados mediante etiquetas autoadheribles y colocados en cajas de poliestireno con refrigerantes y se enviaron al laboratorio inmediatamente después de la colección, por mensajería especial.
- c) Todas las muestras fueron procesadas en el laboratorio en un plazo máximo de 24 horas posteriores a la colección.

2.2 Técnica de necropsia

Después de practicada la eutanasia a los cerdos se llevó a cabo la necropsia de acuerdo con la técnica descrita por Segalés y Domingo.²⁷³

Inicialmente examinando piel, orificios naturales, pelo, linfonodos superficiales, desde el cráneo hasta la región caudal. Posteriormente el cadáver fue colocado en posición decúbito dorsal haciendo cortes en la región axilar y en la articulación coxo-femoral para mantener el cadáver estable y continuar con la disección.

2.2.1 Apertura del cadáver

Se realizaron dos cortes sobre piel y tejido subcutáneo en forma de triángulo en la sínfisis mandibular siguiendo la proyección de la mandíbula. Posteriormente, se realizó una incisión hasta la entrada del tórax donde con el mismo instrumento de corte se seccionó la zona cartilaginosa de las costillas, dejando al descubierto la cavidad torácica y siguiendo el corte se procedió a la apertura de cavidad abdominal hasta la sínfisis púbica.

2.2.2 Estudio de los órganos de la cavidad abdominal

Inicialmente se extrajo el epiplón en conjunto con el bazo, para la posterior extracción de los intestinos se realizaron 3 ligaduras dobles (para hacer el corte entre ambas);

1. A nivel del ligamento duodenocólico (punto de terminación de la cola del páncreas).
2. A nivel de íleon en su desembocadura en el ciego.
3. A nivel del recto.

Removiendo las asas intestinales con precaución de no dañar la capa serosa del intestino se revisaron linfonodos mesentéricos evaluando su tamaño y color. La extracción de las asas intestinales se realizó cortando primero el mesenterio y se separó asa por asa realizando el corte entre las ligaduras, se evaluó la serosa y se realizó la apertura del intestino en

porciones representativas de cada segmento (duodeno, yeyuno, íleon y colon) valorando, contenido, color, olor, consistencia, presencia de gas, presencia de moco o sangre en exceso y grosor de la pared.

Se tomó una porción del colon ascendente de aproximadamente 2.0 cm lineales, realizando dobles ligaduras en los extremos y se cortó entre ellas, el tejido seccionado se preservó en frascos de plástico de boca ancha con solución de formalina amortiguada al 10.0% para su posterior análisis histopatológico. Al ciego y colon (descendente y transversal) de igual forma se le evaluó el contenido, color, olor, consistencia, presencia de gas, presencia de moco o sangre en exceso y grosor de la pared.

A continuación se realizó una ligadura a nivel del cardias y se extrajo el hígado, estómago y duodeno (después de seccionar esófago, vena cava y arteria aorta a la altura del diafragma). Se incidió con tijeras el duodeno y se comprobó que no existiera obstrucción a nivel del conducto colédoco, efectuando presión sobre la vesícula biliar. Posteriormente se incidió el estómago desde el píloro por la curvatura mayor poniendo atención a la presencia de úlceras y/o edema. Se separó el duodeno del hígado, mismo que únicamente fue inspeccionado externamente sin realizar ningún corte sobre el parénquima.

2.2.3 Estudio de los órganos de la cavidad torácica

Se separó la lengua de la mandíbula cortando el punto más craneal de las tonsilas palatinas, una vez cortada la articulación del hueso hioides de cada lado, se separaron de la musculatura de la base de la lengua, laringe, tráquea y esófago; hasta la entrada del tórax. Con una ligera tracción se extrajeron pulmones y corazón. El corazón no se separó de los pulmones, únicamente se evaluó la cantidad de líquido entre las pleuras y la presencia o

ausencia de adherencias, así como el color, la forma, consistencia y características de la grasa pericárdica.

El esófago se separó de tráquea y pulmones dejándolo sujeto a la laringe únicamente por su porción más craneal y se incidió longitudinalmente con tijeras, revisando la presencia de edema y úlceras. A los pulmones se les examinó color, textura, presencia de edema, zonas de consolidación y distribución de las mismas.

Por cuestiones de disponibilidad de tiempo de los encargados de granja y servicios de mensajería y paquetería, no se realizó la evaluación del aparato urogenital, encéfalo, cornetes y médula ósea, ni aparato locomotor, además debido a que los objetivos específicos de este estudio la colección de muestras fue dirigida hacia tejido intestinal (colon) con lesiones macroscópicas sugestivas de la presencia de EI u otros enteropatógenos en cada cerdo examinado *postmortem* asociados a colitis infecciosa.

2.2.4 Colección de muestras de tejido intestinal

- a) El encargado, porcicultor o médico responsable de la granja proporcionaron tres cerdos previamente eutanasiados para la obtención de las muestras de tejido intestinal (colon ascendente).
- b) Se colectaron secciones de colon ascendente de aproximadamente 2 cm lineales de cada cerdo eutanasiado (en una granja no se proporcionaron cerdos para la obtención de muestras de tejido).
- c) Las muestras fueron preservadas en 20 ml de solución de formalina al 10.0% amortiguada con pH de 7.4, en frascos limpios de plástico de boca ancha, previamente identificados con marcador indeleble.

- d) Las muestras de tejidos fueron enviadas al laboratorio después de su colección y fueron procesadas en diciembre del 2006 y enero del 2007.

2.3 Obtención de información de producción de las granjas.

En cada granja se colectó información relevante mediante la aplicación de una encuesta (Anexo 1), para generar una base de datos y realizar análisis epidemiológico de las granjas monitoreadas para determinar factores de riesgo asociados a la ocurrencia de infección por EI. La encuesta consistió en 179 preguntas de las cuales 31 son dicotómicas, 82 abiertas y 66 con opciones de respuesta múltiple (Anexo 1).

El estudio contemplaba un tamaño mayor de muestra y debido al número final de granjas monitoreadas (13) la información fue insuficiente para establecer factores de riesgo.

2.4 Procesamiento de las muestras de heces en el laboratorio

El trabajo de laboratorio del presente estudio fue realizado en el Centro de Investigación y Estudios Avanzados en Salud Animal (CIESA) de la Universidad Autónoma del Estado de México (UAEM), ubicado en el Km 15.5 carretera Toluca-Atlacomulco, San Cayetano de Morelos, Toluca, Estado de México.

2.4.1 Preparación del medio *Brachyspira Selective Medium* (BSM):

Medio base:

- a. Agar Columbia No. 2 (Oxoid, UK) 39.0 g/litro.
- b. Agua destilada no estéril
- c. Suplementos: a) sangre de caballo (8.0%).
b) compuesto de antimicrobianos (10.0ml).

2.4.2 Preparación del compuesto de antimicrobianos:

- Espectinomicina dihidroclorada (Sigma S9007, 62.0 % de potencia) 800 µg/ml.
- Vancomicina hidrociorada (Sigma V2002, 100 % de potencia) 25 µg/ml.
- Colistina Metano Sulfonada (Sigma 1151, 10,000-15,000 UI/mg) 25 µg/ml.
- Rifampicina (Aventis) 12.5 µg/ml y 25.0 µg/ml.
- Agua destilada estéril (10 ml).

Se pesaron en balanza analítica digital y se mezclaron los ingredientes (antibióticos), se disolvieron por adición lenta de 10 ml de agua destilada estéril a temperatura ambiente y se filtraron con membranas de 0.45 mm en tubos universales estériles con tapa, el compuesto de antimicrobianos filtrado se almacenó en refrigeración a 4.0°C hasta su utilización.

2.4.3 Preparación de placas:

Para la preparación de los medios selectivos BSM, BSMr, BSM2r (Cuadro 7) o agar sangre AS, el polvo del agar base (Columbia No 2, Oxoid, UK) se diluyó en agua destilada a razón de 39.0 g/l en matraz Erlenmeyer y calentando hasta punto de ebullición, una vez obtenida una preparación homogénea se esterilizó en autoclave a 121°C, 15 libras de presión durante 15 minutos. La preparación se mantuvo a temperatura ambiente hasta alcanzar 56°C para incorporar 8.0% de sangre de caballo. Finalmente, se adicionó el suplemento de antimicrobianos de acuerdo al medio a preparar (en caso de ser AS no se le adicione ningún tipo de suplemento de antimicrobianos) para entonces vaciar junto al mechero de Bunsen en cajas de petri de 10 cm de diámetro por 1.5 cm de alto, sobre una mesa previamente sanitizada, haciendo placas de aproximadamente 15.0 ml, las cuales se dejaron solidificar a temperatura ambiente (22-25°C) y luego fueron mantenidas en refrigeración (4°C) hasta su uso (sembrado de muestras de heces), adicionalmente se tomaban el 5% de las cajas

preparadas y se metían a la incubadora a 37-42°C durante 24 horas para determinar que el lote esta libre de contaminantes.

Cuadro 7: Concentraciones de antibióticos de las placas BSM.

Nombre del medio	Antibióticos y Concentraciones Utilizadas
BSM	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Espectinomicina 800 µg/ml ➤ Vancomicina 25 µg/ml ➤ Colistina 25 µg/ml
BSM r	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Espectinomicina 800 µg/ml ➤ Vancomicina 25 µg/ml ➤ Colistina 25 µg/ml ➤ Rifampicina 12.5 µg/ml
BSM 2r	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Espectinomicina 800 µg/ml ➤ Vancomicina 25 µg/ml ➤ Colistina 25 µg/ml ➤ Rifampicina 25 µg/ml

2.5 Aislamiento e identificación de *Brachyspira spp.*

El aislamiento de *Brachyspira spp.*, se realizó por medio de sembrado de muestras de heces en las 3 modalidades del medio selectivo (BSM, BSMr y BSM2r) con diferentes concentraciones de antibióticos para favorecer el crecimiento de EI e inhibir parcialmente la microbiota simbiótica intestinal.

2.5.1 Procedimiento de sembrado.

1. Las muestras de heces en tubos de colección fueron homogenizadas por 15 segundos en *vortex*.
2. Cada placa de BSM fue dividida en tres partes mediante un plumón indeleble en la parte posterior de la caja de petri, para permitir sembrar 3 muestras diferentes en cada una.
3. La primera inoculación se realizaba con el mismo hisopo con el cual se obtuvieron las heces y las inoculaciones posteriores fueron de un volumen de 10 µl de cada muestra inoculándolo en las 3 modalidades de BSM.
4. Las placas inoculadas fueron incubadas en jarras con atmósfera anaeróbica (95.0% CO₂, 5.0% N) generada mediante *GasPak (AnaeroGen Oxoid, U.K.)* a 42°C durante 7 días. Para corroborar la anaerobiosis se uso un indicador colorimétrico (*Anaerobic indicator Oxoid, UK*), el cual se introdujo en las jarras. Después del periodo de incubación, una atmósfera anaeróbica se demuestra por el color blanco del indicador y una atmósfera aeróbica se demuestra por color rosa.
5. El crecimiento característico (primo-aislamiento) de EI fue confirmado mediante la observación microscópica de cuerpos espiroquetales en frotis teñidos con Gram, en el que se evaluó grado de pureza.
6. El crecimiento de EI en primo-aislamiento fue subcultivado en placas de Agar Sangre (AS) o BSM para eliminar las colonias bacterianas indeseables diferentes a *Brachyspira spp*, el cual se incubó en atmósfera anaeróbica a 42°C por 4-5 días para obtenerlas en cultivo puro.
7. Adicionalmente, se realizaron sembrados en BSM y AS por la técnica del agar cortado descrita por Olson, (1996),²⁷⁴ que describe un corte longitudinal sobre el

medio de cultivo para purificar cultivos de EI contaminados, con el objeto de aislarlas por su motilidad.

2.6 Histopatología

Las muestras de tejido intestinal preservadas en formol fueron cortadas e incluidas en parafina a partir del 18 de diciembre del 2006 y se terminaron de procesar a final de enero del 2007.

Las muestras de colon fueron cortadas y colocadas en parafina, posteriormente se cortaron en microtomo a $6\mu\text{m}$ y se tiñeron con Hematoxilina y Eosina (HE) y fueron revisadas al microscopio fotónico a diferentes aumentos (10X, 40X, 100X), registrando las lesiones y estableciendo el diagnóstico morfológico del tejido. Las lesiones únicamente fueron analizadas de manera descriptiva.

La técnica histopatológica y de tinción utilizada fue la descrita por el Instituto de las Fuerzas Armadas de los E.U.A en 1992.²⁷⁵

2.6.1 Técnica de Tinción de Warthin Starry

Después de la observación de las 35 laminillas teñidas con HE, se seleccionaron 10, en las que se encontraron lesiones sugestivas de EI y/o se obtuvo aislamiento bacteriológico para procesarlos nuevamente cortando los tejidos y colocarlos en parafina, para posteriormente cortar con microtomo a $6\mu\text{m}$ y se tiñeron con plata de acuerdo al Instituto de las Fuerzas Armadas de los E.U.A.²⁷⁵

Posteriormente las laminillas fueron observadas a diferentes aumentos al microscopio fotónico y se registro la presencia o ausencia de células espiroquetales en el tejido.

2.7 Análisis epidemiológico

Con el objetivo de determinar factores de riesgo asociados a la presentación de cuadros clínicos de espiroquetosis intestinal se diseñó una encuesta (Anexo 1) para ser contestada por los médicos o encargados de cada granja, la encuesta fue validada previamente mediante su aplicación a tres diferentes empleados de granja con diferentes funciones para detectar fallas en la redacción de las preguntas y aclarar las dudas que surgieran, además de establecer el tiempo promedio para la aplicación de la encuesta.

La información solicitada consistió en:

1. Datos generales de la granja como localización, tamaño y tipo de producción.
2. Manejo en cada etapa productiva:
 - Lactancia: días de lactancia, tipo de sistema utilizado, presencia de diarreas y neumonías, así como sus tratamientos, utilización de preiniciadores, etc.
 - Destete: tamaño de grupos, número de cerdos por edificio, presencia de neumonía y diarreas así como su tratamiento, porcentaje de cerdos retrasados y de mortalidad, tipo de alimento y características de las instalaciones, medicaciones en la dieta, etc.
 - Crecimiento: tamaño de grupos, permanencia en la etapa, presencia de diarreas y neumonías así como sus tratamientos, características de las instalaciones, tipo de alimentación y medicaciones en las dietas, inmunizaciones, etc.
 - Engorda: tamaño de grupos, permanencia, presencia de diarreas y neumonías, tipo de antibiótico usado como tratamiento, porcentajes de mortalidad y cerdos retrasados, características de las instalaciones y del alimento, promotores de crecimiento, etc.

- Reemplazos: tamaño de grupos, origen, presencia de diarreas y neumonía además del tratamiento proporcionado para controlar esos problemas, porcentajes de mortalidad, tipo de instalaciones, etc.

3. Bioseguridad, acceso a la granja y control de vectores, etc.

Con la información colectada se generó una base de datos en el programa EPED del programa EPI-INFO versión 6.04 (Centers for Disease Control & Prevention CDC, USA, World Health Organization. Switzerland, 2001) ingresando los datos en el programa ENTER de EPI-INFO versión 6.04, de acuerdo a la codificación previamente establecida para la encuesta y respuestas (Anexo 2).

La base de datos generada con información de las granjas muestreadas fue analizada con el programa ANALYSIS de EPI-INFO versión 6.04. El presente estudio fue diseñado para incluir un número mayor de granjas y de esta forma poder realizar un análisis y determinar factores de riesgo asociados a la presencia de EI en cerdos criados en granjas comerciales de diferentes regiones de México. Aunque en esta ocasión sólo se presenta la información colectada en el caso del estado de Sonora y 1 granja en el estado de Sinaloa, únicamente se pudo establecer un análisis de frecuencias de la información colectada, debido al bajo número de muestras (n=13) no existe significancia estadística en el análisis.

CAPÍTULO 3: RESULTADOS

3.1 Aislamiento e identificación de *Brachyspira spp.*

Los sembrados de las muestras en medio selectivo BSM de cada granja fueron revisadas después de 7 días de incubación para primo-aislamiento, buscando el crecimiento característico de *Brachyspira spp.*

El crecimiento característico de *Brachyspira spp.*, fue comprobado por la observación en frotis de cuerpos espiroquetales Gram negativos en 3 de las 156 muestras obtenidas (1.92%), identificando 1 de 13 (7.6%) granjas como positivas a la presencia de Espiroquetas Intestinales del género *Brachyspira*, a su vez en la granja considerada como positiva se recuperaron EI en el 25.0% (3/12) de las muestras en las cuales se confirmó la presencia de espiroquetas en frotis teñido con Gram. En las preparaciones de frotis también se observó la presencia de otras formas bacterianas en grados variables, constituidas por bacilos Gram negativos, cocos Gram positivos y levaduras.

La purificación del crecimiento característico se realizó haciendo subcultivos en medio selectivo BSM por triplicado, incubando por 5 días en anaerobiosis a 42°C, al realizar la observación macroscópica de los placas se observó nuevamente el crecimiento característico de *Brachyspira spp.*, pero no se logró la purificación de dichas colonias.

Se realizaron hasta 5 resiembras para cada primo-aislamiento con las mismas condiciones de incubación pero el resultado fue negativo, ya que las espiroquetas no tuvieron el desarrollo esperado aún cuando los medios y las condiciones de incubación fueron las ideales para el crecimiento de *Brachyspira spp.*

Se intentó recuperar los aislamientos haciendo una nueva inoculación a partir de las muestras de heces (mantenidas en refrigeración) de las cuales no hubo desarrollo del

crecimiento característico. Sin embargo hubo desarrollo de otras bacterias, entre las cuales se observaron levaduras, bacilos Gram negativos y algunos cocos Gram positivos.

Dos muestras provenientes de las granjas (Granja 5 y Granja 10 una de cada una respectivamente) se desarrollaron zonas de crecimiento y hemólisis sugestivas de EI, se realizó el frotis para confirmar y se observaron 3 a 5 espiroquetas por campo mezcladas entre una gran cantidad de microorganismos de morfología similar a EI pero de diámetro y longitud mayor, se procedió a realizar la resiembra en medio selectivo BSM, incubando nuevamente en las mismas condiciones antes mencionadas, para tratar de aumentar los números y purificar los cultivos pero el resultado fue negativo no obteniendo desarrollo de células espiroquetales en ninguna de las dos resiembras realizadas.

Para todos los casos se realizó un subcultivo a partir del crecimiento sugestivo en BSM (las placas se mantenían en refrigeración hasta observar el siguiente pase) incubándolo nuevamente por 7 días en anaerobiosis para tratar de purificarlo por la técnica de corte de agar (Olsen,1996), aprovechando la condición de que las bacterias del género *Brachyspira* son móviles y por lo que el crecimiento se desarrolla alrededor del corte realizado en el medio sólido, pero no se obtuvo el crecimiento de EI en ninguno de los 5 posibles aislamientos al realizar la inspección macroscópica y microscópica de las placas.

Los resultados de los sembrados que desarrollaron crecimiento característico confirmado por frotis se resume en el cuadro 8.

Cuadro 8: Muestras que desarrollaron crecimiento característico de EI

Granja	Muestra	Medio Selectivo	Frotis teñido con Gram	Medio de subcultivo	Número de resiembras	Resultado final
3	6	BSM 2 r	Números pobres de EI	BSM	5	Sin desarrollo
	8	BSM 2 r	Números pobres de EI	BSM	5	Sin desarrollo
	9	BSM BSM r BSM 2r	Números pobres de EI	BSM	5	Sin desarrollo
5	3	BSM	Formas similares a EI	BSM	3	Sin desarrollo
10	4	BSM	Formas similares a EI	BSM	3	Sin desarrollo

Debido a la ausencia de crecimiento abundante de espiroquetas en cultivo puro no se logró identificar la especie por pruebas bioquímicas. Sin embargo, en otro muestreo paralelo de otra zona de producción llevado a cabo por el mismo grupo de trabajo se logró aislar EI en cultivo puro usando la misma metodología, las cuales fueron identificadas como *Brachyspira pilosicoli*.

3.2 Análisis histopatológico

Las lesiones macroscópicas se registraron al momento de realizar la necropsia en granja. Para el caso de la observación de preparaciones teñidas con HE, se obtuvo el diagnóstico de la morfología del tejido en cada caso, además de una breve descripción de hallazgos y lesiones más significativas observadas al microscopio fotónico a diferentes aumentos (10X, 40X, 100X). Las lesiones fueron analizadas únicamente de manera descriptiva.

Granja 1:

Cerdo 1: Macroscópicamente se observó en pulmón aumento de tamaño de linfonodos mediastínicos, áreas de consolidación en el lóbulo apical derecho, diafragmático derecho y zonas de consolidación en forma de parches del lóbulo diafragmático izquierdo, el íleon se observó dilatado con la presencia de gas y con contenido líquido, mientras que en el colon, existía edema de la mucosa, contenido líquido de color amarillento en la luz del colon, congestión y hemorragias petequiales en la mucosa.

Cerdo 2: Macroscópicamente se observaron en pulmón adherencias, presencia de fibrina, áreas de consolidación y aumento de tamaño de linfonodos mediastínicos, aumento de tamaño de linfonodos mesentéricos y presencia de fibrina en las asas intestinales. En tanto en el colon, se observó puntilleo blanquecino en la serosa y zonas de congestión moderada, los mismos hallazgos fueron encontrados en íleon.

Cerdo 3: Macroscópicamente se observó en pulmón, áreas de consolidación y aumento de los linfonodos mediastínicos, adherencias, así como aumento de tamaño de linfonodos mesentéricos, en colon e intestino delgado congestión ligera de las asas intestinales y dilatación con presencia de gas, el ciego se observó congestionado con contenido líquido de color verdoso.

Granja 2:

Cerdo 1: Macroscópicamente se observó la cavidad torácica con presencia de adherencias, pericardio cubierto completamente de fibrina, en la cavidad abdominal había líquido claro y presencia de fibrina con edema subcutáneo y aumento de tamaño de linfonodos mesentéricos, el ciego se observaba dilatado con presencia de gas, edema en las asas intestinales y depósitos de fibrina.

Cerdo 2: Macroscópicamente se observó en pulmón áreas de congestión y hemorragias, en asas intestinales había edema y congestión difusa, ligera hiperplasia aparente de la mucosa del íleon, congestión en estómago y ciego con contenido líquido de color verdoso.

Cerdo 3: Macroscópicamente se observaron en pulmón focos neumónicos difusos con linfonodos mediastínicos aumentados de tamaño, aumento de tamaño de linfonodos mesentéricos, intestino delgado dilatado con presencia de gas y en colon y ciego, contenido líquido de color verdoso.

Granja 3:

Cerdo 1: Macroscópicamente se observó el pulmón sin cambios patológicos aparentes, el intestino delgado con hiperplasia aparente, intestino grueso dilatado con presencia de gas, ciego y colon con aspecto edematoso de la mucosa, contenido líquido de color amarillento y zonas de congestión.

Cerdo 2: Macroscópicamente se observó en pulmón congestión y zonas hemorrágicas, aumento de tamaño e hiperemia de linfonodos mediastínicos y mesentéricos, en riñón múltiples hemorragias petequiales en la corteza renal, en colon aspecto edematoso y contenido líquido de color amarillento.

Cerdo 3: Macroscópicamente se observó el pulmón sin cambios patológicos aparentes, en tanto que en asas intestinales había dilatación con presencia de gas y contenido líquido de color amarillento, en ciego aspecto edematoso de la mucosa, zonas de congestión y contenido líquido de color amarillento.

Granja 4:

Cerdo1: Macroscópicamente se observó en pulmón edema, congestión y áreas de consolidación, aumento de tamaño de linfonodos mesentéricos, úlceras en íleon de 2-4 mm

cerca de la válvula ileocecal, hiperplasia aparente de la mucosa y en colon zonas de congestión y hemorragias con presencia de úlceras en la mucosa y material necrótico adherido.

Cerdo 2: Macroscópicamente se observó en pulmón edema, hemorragias petequiales en la pleura visceral, áreas de consolidación, aumento de tamaño de linfonodos mesentéricos, colon con inflamación moderada e íleon sin cambios patológicos aparentes.

Cerdo 3: Macroscópicamente se observó en pulmón edema y congestión en linfonodos mediastínicos, neumonía intersticial sugestiva de infección viral, presencia de líquido en cavidad abdominal con aumento de tamaño de linfonodos mesentéricos, hiperplasia moderada de la mucosa del íleon y colon sin cambios patológicos aparentes, en riñón se observaron hemorragias petequiales en la corteza.

Granja 5:

Cerdo 1: Macroscópicamente se observó en pulmón edema intersticial, congestión de la región dorsal, aumento de tamaño de linfonodos mediastínicos, edema en intestinos y ciego con zonas de congestión y contenido líquido de color verdoso.

Cerdo 2: Macroscópicamente se observó en pulmón aumento de tamaño de linfonodos mediastínicos, múltiples zonas hemorrágicas en la región dorsal, áreas de consolidación craneoventral, esplenomegalia, asas intestinales dilatadas con presencia de gas y contenido líquido de color amarillento acompañadas de aumento de tamaño de linfonodos mesentéricos.

Cerdo 3: Macroscópicamente se observó en pulmón neumonía intersticial y edema, el colon y ciego con aspecto edematoso y congestión de la mucosa con contenido líquido de color amarillento, úlceras y congestión de la región fúndica del estómago.

Granja 6:

Cerdo 1: Macroscópicamente se observó en pulmón hiperemia e hiperplasia de linfonodos mediastínicos, hemorragias petequiales y edema en traquea. Estómago con micro úlceras en la región fúndica, intestino delgado y grueso dilatados con presencia de gas.

Cerdo 2: Macroscópicamente se observaron en pulmón zonas de consolidación en los lóbulos apical, cardiaco y diafragmático, además de focos neumónicos. Aumento de tamaño de linfonodos mesentéricos en intestino delgado ligera hiperplasia de la mucosa y dilatación con presencia de gas, la mucosa del ciego se observó cogestionada y hemorrágica.

Cerdo 3: Macroscópicamente se observaron en cavidad torácica, hilos de fibrina y adherencias en pulmón, zonas de consolidación en lóbulos diafragmático y cardiaco, hemorragias y zonas neumónicas, exudado en saco pericardico. Presencia de líquido en cavidad abdominal, congestión, edema y adherencias entre las asas intestinales, aumento de tamaño del hígado, lobulillos remarcados y linfonodos mesentéricos aumentados de tamaño, intestinos sin cambios patológicos aparentes.

Granja 7:

Cerdo 1: Macroscópicamente se observaron en pulmón áreas de consolidación en lóbulo apical y cardiaco sugestivas de neumonía. Ciego y colon con aspecto edematoso y contenido líquido de color amarillento.

Cerdo 2: Macroscópicamente se observó en pulmón edema intersticial y zonas hemorrágicas en la superficie dorsal, en estómago contenido líquido de color amarillento y presencia de fibrina en cavidad abdominal, colon y ciego con aspecto edematoso y contenido líquido.

Cerdo 3: Macroscópicamente se observaron en pulmones hemorragias y congestión en la superficie dorsal del pulmón, edema en traquea, hidropericardio. Aumento de tamaño del hígado, congestión y aumento de tamaño de linfonodos mesentéricos en intestino delgado hiperplasia aparente y dilatación con presencia de gas al igual que en el intestino grueso.

Granja 8:

Cerdo 1: Macroscópicamente se observó en pulmón edema intersticial, zonas de congestión en lóbulo apical, cardiaco y accesorio. Esplenomegalia, en estómago ligeras erosiones, situadas en los márgenes de la *pars* esofágica y úlceras de diferentes diámetros, el intestino grueso se observó dilatado con presencia de gas, a la sección la mucosa hemorrágica y contenido líquido de color amarillento mientras que el ciego dilatado con contenido líquido y zonas hemorrágicas en toda la mucosa.

Cerdo 2: Macroscópicamente se observó el pulmón sin cambios patológicos aparentes. Aumento de tamaño de linfonodos mesentéricos, estómago con paraqueratosis de la *pars* esofágica, intestino delgado dilatado con presencia de gas, contenido líquido de color amarillento, hiperplasia aparente de la mucosa. Edema del mesocolon, ciego y colon dilatados con presencia de gas y contenido líquido amarillento.

Cerdo 3: Macroscópicamente se observó la cavidad torácica cubierta de fibrina y los pulmones con áreas de consolidación en lóbulo cardiaco y zonas hemorrágicas en la superficie dorsal, corazón cubierto de fibrina. Peritonitis fibrinosa, úlceras en la válvula ileocecal, ciego congestionado con contenido líquido de color café. Bazo con zonas hemorrágicas en el parénquima y restos de fibrina adherida.

Granja 9:

Cerdo 1: Macroscópicamente se observaron en pulmón áreas de consolidación en lóbulo apical, aumento de tamaño de linfonodos mediastínicos. Aumento de tamaño de linfonodos mesentéricos, congestión del intestino delgado y dilatación con presencia de gas del intestino grueso, edema en colon y al corte se observó contenido líquido color café, aspecto edematoso de la mucosa y presencia de micro úlceras.

Cerdo 2: Macroscópicamente se observaron en pulmón adherencias y fibrina, zonas de consolidación en lóbulos apical, cardiaco y accesorio. Aumento de tamaño de linfonodos mesentéricos, hiperplasia aparente y congestión del intestino delgado, en ciego y colon zonas de congestión, adelgazamiento de la pared, aspecto edematoso y contenido líquido de color amarillento.

Cerdo 3: Macroscópicamente se observó el pulmón sin cambios patológicos aparentes. Aumento de tamaño de linfonodos mesentéricos, hiperplasia aparente de la mucosa del intestino delgado, intestino grueso dilatado con presencia de gas, ciego adelgazamiento de la pared, zonas de congestión y contenido líquido de color amarillento.

Granja 10:

Cerdo1: Macroscópicamente se observaron en pulmón áreas de consolidación difusas en pulmón derecho, presencia de fibrina en la pleura visceral. Presencia de líquido en cavidad abdominal y depósitos de fibrina sobre el mesenterio, intestino delgado y colon dilatados con presencia de gas y contenido líquido amarillento.

Cerdo 2: Macroscópicamente se observaron en pulmón áreas de consolidación ventral. El íleon sin cambios patológicos aparentes, en colon inflamación difusa moderada y puntilleo blanquecino en la serosa del colon.

Cerdo 3: Macroscópicamente se observaron en pulmón focos neumónicos y granulomas en lóbulos diafragmáticos, consolidación del lóbulo apical. Aumento de tamaño de linfonodos mesentéricos, íleon sin cambios patológicos aparentes, pero en ciego y colon se observó inflamación moderada e hiperplasia aparente de la mucosa.

Granja 11: No se obtuvieron muestras de tejido.

Granja 12:

Cerdo 1: Macroscópicamente se observaron en pulmón áreas de consolidación cráneo ventral, zonas de congestión en lóbulo accesorio y cardiaco. En ciego contenido líquido de color amarillento y colon con aspecto edematoso de la mucosa y moderadas zonas de congestión.

Cerdo 2: Macroscópicamente se observaron en pulmón áreas de consolidación en lóbulo diafragmático y cardiaco. Colon con aspecto edematoso, estenosis de la luz intestinal, contenido líquido de color grisáceo.

Cerdo 3: Macroscópicamente se observaron en pulmón edema intersticial, áreas de consolidación en lóbulo accesorio, consolidación cráneo ventral. Aumento de tamaño de linfonodos mesentéricos, congestión y contenido líquido de color amarillento en el intestino delgado, en ciego y colon congestión, hemorragias en la mucosa con contenido líquido de color amarillento.

Granja 13:

Cerdo 1: Macroscópicamente el pulmón se observó con aspecto edematoso y múltiples hemorragias marcadas en la región dorsal. Aumento de tamaño de linfonodos mesentéricos, intestino delgado y colon dilatado con presencia de gas y congestión difusa.

Cerdo 2: Macroscópicamente se observaron en pulmón áreas de consolidación cráneo ventral, aumento de tamaño de linfonodos mediastínicos y mesentéricos, hiperplasia aparente de la mucosa del intestino delgado, ciego con pared adelgazada y zonas difusas de congestión, en intestino grueso congestión y dilatación con presencia de gas, puntillero blanquecino en la serosa del colon.

Las lesiones microscópicas que fueron observadas y analizadas únicamente de manera descriptiva, son presentadas en forma de resumen en el cuadro 9.

Cuadro 9: Tipo, número y porcentaje de lesiones microscópicas observadas en las laminillas de colon teñidas con HE

Total de muestras:35	Colon	
Tipo de lesión	Número	Porcentaje
Células epiteliales aplanadas	5	14.28
Erosiones epiteliales	4	11.42
Infiltración mononuclear	35	100
Criptas dilatadas	7	20.00
Criptas con moco	2	5.71
Criptitis	1	2.85
Hiperplasia de las criptas	2	5.71
Aumento en número de células caliciformes	6	17.14
Abcedación de las criptas	3	8.57
Congestión de la lamina propia	2	5.71
Bacterias adheridas al epitelio	3	8.57
Presencia de <i>Balantidium coli</i>	4	11.42

3.3 Tinción Warthin Starry

Se seleccionaron 10 laminillas para realizar la tinción de Warthin Starry (WS) y evidenciar al agente, con base a la presencia de lesiones sugestivas de EI en preparaciones HE o de las muestras que se hayan obtenido primo-aislamientos.

En el cuadro 10 se muestra los diagnósticos morfológicos observados en las preparaciones teñidas con HE y su resultado de la observación con la tinción WS.

Cuadro 10: Diagnósticos morfológicos y resultados de la observación de laminillas teñidas (WS)

Granja	Muestra	Diagnostico Morfológico (Tinción HE)	Tinción WS
1	1	Colitis linfoplasmocitaria moderada difusa	EI -vo
	2	Colitis linfoplasmocitaria moderada difusa	EI +vo
	3	Colitis linfoplasmocitaria moderada difusa	---
2	1	Colitis linfoplasmocitaria moderada difusa	EI +vo
	2	Colitis linfoplasmocitaria moderada difusa	---
	3	Colitis linfoplasmocitaria moderada difusa	---
3	1	Colitis linfoplasmocitaria severa difusa	EI +vo
	2	Colitis linfoplasmocitaria severa difusa	EI +vo
	3	Colitis linfoplasmocitaria discreta difusa	EI -vo
4	1	Colitis linfoplasmocitaria severa difusa	---
	2	Colitis linfoplasmocitaria moderada difusa	EI +vo
	3	Colitis linfoplasmocitaria moderada difusa	---
5	1	Colitis linfoplasmocitaria discreta difusa	---
	2	Colitis linfoplasmocitaria moderada difusa	EI +vo
	3	Colitis linfoplasmocitaria discreta difusa	---
6	1	Colitis linfoplasmocitaria discreta difusa	---
	2	Colitis linfoplasmocitaria discreta difusa	---
	3	Colitis linfoplasmocitaria discreta difusa	---
7	1	Colitis linfoplasmocitaria discreta difusa	---
	2	Colitis linfoplasmocitaria discreta difusa	EI -vo
	3	Colitis linfoplasmocitaria discreta difusa	---

8	1	Colitis linfoplasmocitaria discreta difusa	---
	2	Colitis linfoplasmocitaria discreta difusa	---
	3	Colitis linfoplasmocitaria discreta difusa	---
9	1	Colitis linfoplasmocitaria discreta difusa	---
	2	Colitis linfoplasmocitaria discreta difusa	---
	3	Colitis linfoplasmocitaria discreta difusa	---
10	1	Colitis linfoplasmocitaria discreta difusa	EI -vo
	2	Colitis linfoplasmocitaria discreta difusa	---
	3	Colitis linfoplasmocitaria discreta difusa	---
12	1	Colitis linfoplasmocitaria moderada difusa	---
	2	Colitis linfoplasmocitaria moderada difusa	---
	3	Colitis linfoplasmocitaria moderada difusa	---
13	1	Colitis linfoplasmocitaria moderada difusa	---
	2	Colitis linfoplasmocitaria moderada difusa	---

EI +vo: Se observaron células espiroquetales en las laminillas.

EI -vo: No se observaron células espiroquetales en las laminillas.

La información anterior demuestra que aunque el microorganismo no fue aislado en cultivo puro, estaba presente en tejido intestinal pero no de forma característica (colonizando el epitelio intestinal). Sin embargo, la hiperplasia de criptas y células caliciformes con gran cantidad de moco son compatibles con la presencia de EI, en particular con lesiones ocasionadas por *B. pilosicoli*. Debido a que este trabajo formó parte de un estudio más amplio en el que se ha logrado aislar al microorganismo de cerdos de otras zonas de producción y se ha llegado a la identificación del mismo como *B. pilosicoli*, permite tener confianza en la metodología usada para el aislamiento bacteriológico e identificación de los aislados.

3.4 Análisis epidemiológico

El análisis realizado de la información colectada resultó no significativo debido al bajo número de granjas (n=13), además, de que únicamente una granja resultó positivo al

aislamiento. Por lo anterior, solamente se hará una comparación de las medidas utilizadas en las granjas monitoreadas con los reportes de control y profilaxis de las infecciones por EI, para ver de qué manera puede favorecer o disminuir la frecuencia de este tipo de infecciones en las granjas comerciales productoras de cerdo en el estado de Sonora, México. Los factores de riesgo se determinarán en otra fase del proyecto cuando se tenga información recabada de un número mayor de granjas y se tengan más aislamientos identificados.

CAPÍTULO 4: DISCUSIÓN

Es de importancia destacar que el presente estudio pertenece a una línea de investigación sobre espiroquetas intestinales pionera en México, realizado para determinar la presencia de *Brachyspira spp.*, y observar su papel como agente etiológico en las enfermedades entéricas en los cerdos de la etapa de crecimiento y desarrollo en granjas comerciales del estado de Sonora.

Las técnicas utilizadas están basadas en las publicaciones científicas que sustentan el trabajo realizado en varios países. Los primeros aislamientos de EI en cultivo puro logrados de esta línea de investigación se obtuvieron de cerdos en el estado de México usando la misma metodología empleada en el presente estudio, por lo tanto se considera una metodología establecida en México.²⁷⁶ Este estudio se considera novedoso e importante debido a que las técnicas bacteriológicas no habían sido utilizadas anteriormente en México, lo cual es un avance para continuar desarrollando la línea de investigación.

Aunque las espiroquetosis intestinales tienen una distribución mundial, únicamente se reportan en muy pocos casos debido a varios factores:²⁷⁷

- Fallas en las técnicas de aislamiento primario.²²²
- Fallas en la identificación después del aislamiento.^{259,278}
- Fallas en la identificación de lesiones de espiroquetosis intestinal en tejidos enviados para la evaluación diagnóstica.

Se consideró positiva una granja cuando se obtuvo una o más muestras positivas a EI, de acuerdo a estudios en otros países,²⁷⁹ en este caso se obtuvo 1 granja positiva de 13 granjas muestreadas lo que equivale al 7.6%. De la granja considerada como positiva se obtuvieron 3 aislamientos de 12 muestras lo que corresponde al 25.0%, de las muestras tomadas.

Aunque los aislamientos no se pudieron obtener en cultivo puro y consecuentemente identificar mediante pruebas bioquímicas, si se logro identificar el crecimiento característico en medio sólido, el cual se distingue por ser β -hemolítico, colonias pálidas conglomeradas, y su afinidad tintorial a la tinción de Gram observándose en frotis como Gram negativas al microscopio de luz con el objetivo de inmersión (100x).

El hecho de que los aislamientos obtenidos no se hayan podido obtener un cultivo puro podría explicarse por las características propias del género *Brachyspira spp.*, consideradas fastidiosas. En ocasiones estos agentes patógenos sólo pueden ser aislados si su número es muy alto, a diferencia de otras enterobacterias, que pueden ser aisladas con cierta facilidad mediante métodos convencionales de cultivo aún cuando se encuentran presentes en pequeñas concentraciones.²⁸⁰

En el presente estudio se observaron EI en los frotis del primo-aislamiento, el número de EI fue disminuyendo en subcultivos (pases) posteriores, lo cual es contrastante con un estudio retrospectivo realizado por Girard, *et al.*, en 1995²⁰⁶ donde se analizaron 11 casos de ECP observando frotis directos de heces, en los que se contabilizaron hasta 100 células espiroquetales por campo, sin embargo no se logró obtener el aislamiento. En ese trabajo también, se reporta la observación de frotis directos de heces en los que no se observó ninguna espiroqueta por campo en microscopía de luz, pero el cultivo en medio selectivo fue positivo.²⁰⁶ Otro estudio realizado por Stanton y Jensen en 1993, en el que se obtuvieron 4 de 32 muestras positivas en medio selectivo que habían sido negativas a microscopia directa, en contraste, una tercera parte de las muestras (15/43) que habían sido positivas a la observación directa resultaron negativas en cultivo.²⁸¹ Olson y Fales en 1983, reportan una correlación altamente significativa entre la observación de una o más formas

espiroquetales en frotis directos de heces y la obtención de una fuerte o débil β -hemólisis característica del crecimiento espiroquetal en agar sangre, sin embargo, obtuvieron 67 muestras en las que se podían observar una o más células espiroquetales por campo en frotis directo, pero que no existió crecimiento en cultivo y en contraste 57 muestras que produjeron β -hemólisis fuerte o débil en cultivo, en frotis directo de heces no se observaron espiroquetas.²⁸² Aunque en el presente estudio no se realizó la observación primaria de frotis de heces, si se observaron cuerpos espiroquetales en primo-aislamiento pero en pases subsiguientes fueron disminuyendo en número.

Existen otros factores importantes que pueden estar asociados a una baja frecuencia de aislamiento de EI, como la viabilidad del microorganismo. En el presente estudio las muestras de heces se colectaron entre las 10:00 y las 12:00 hrs, llegando al laboratorio a las 12:00 hrs del día siguiente, manteniéndose por un periodo de 24 ± 2 horas, en medio de cultivo suplementado con antibióticos y en una caja de poliestireno con refrigerante, a una temperatura no mayor de 10°C medida con un termómetro de mercurio cuando el refrigerante aún estaba completamente congelado. Existen reportes que han encontrado que la viabilidad de EI en suspensiones fecales se reduce significativamente a 24°C y 37°C . *B. hyodysenteriae* sobrevive en promedio 3 días a -70°C , 4.25 días a 4°C y 2 días a 24°C y menos de un día a 37°C , también para *B. pilosicoli* se observó una disminución de la viabilidad con el incremento de la temperatura, en promedio sobreviven 21 días a -70°C , 12 días a 4°C , 3.5 días a 24°C y 1.25 días a 37°C .²⁸³ Existen otros estudios de viabilidad de EI en heces porcinas que indican que *Brachyspira hyodysenteriae* puede sobrevivir por 30 días a 10°C , mientras que a 22°C se disminuye su viabilidad a 8 días.¹⁸⁵ La sobrevivencia de *B. hyodysenteriae* en efluentes de agua se ha detectado por 5-6 días después de ser excretada

por cerdos infectados.²⁸⁴ Para el caso de *Brachyspira pilosicoli* se ha encontrado que puede ser por 66 días mantenida a 4°C en agua de laguna.²⁸⁵ Boye, *et al.*, en 2001, estudiaron la sobrevivencia de *B. hyodysenteriae* en varios microambientes y concluyeron que podría sobrevivir por 10 días en suelo puro, 78 días en suelo mezclado con 10.0% de heces porcinas y 110 días en heces porcinas, para determinar la viabilidad se realizaban inoculaciones en medios selectivos y posteriormente por la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR, siglas en inglés), en el caso de realizar la extracción de ADN directamente de los microambientes *B. hyodysenteriae* fue detectada hasta los 112 días en los tres microambientes. Para el caso de *B. pilosicoli* se detectó hasta 119 días en suelo con 10.0% de heces porcinas y en heces porcinas la sobrevivencia fue de 210 días, esto fue determinado por inoculación en medio selectivo seguido de PCR, cuando se realizó la extracción de ADN directa de los tres microambientes seguida de un PCR se encontró viable al microorganismos por 330 días.²⁸⁶

En cuanto a la viabilidad de otras espiroquetas obtenidas de aves de postura se ha determinado la viabilidad en heces a 37°C, y la tendencia fue que *B. intermedia* presentaba una supervivencia mayor que *B. pilosicoli*, pero el máximo tiempo de supervivencia para ambas especies a 4°C fue únicamente de 72-84 horas.²⁸⁷

La viabilidad resulta un factor crítico en el aislamiento de EI a partir de muestras de campo cuando implica el movimiento de muestras del campo al laboratorio durante más de 24 horas. En este estudio las muestras fueron tomadas e inmediatamente enviadas al laboratorio por mensajería especial, pero refrigerante en caja de poliestireno no conserva temperaturas de refrigeración por más de 12 horas por lo que las muestras fueron mantenidas por un periodo aproximado de 12 horas a temperatura ambiente, lo que podría disminuir la viabilidad en caso de que estuvieran presentes.

Otro factor que influye en la viabilidad de EI es la desecación y la utilización de desinfectantes en las granjas. En el presente estudio todas las granjas aplican sistemas de manejo Todo Dentro-Todo Fuera (TD-TF) y prácticas de higiene y desinfección antes de introducir nuevos lotes de animales, fenómenos que puede afectar al microorganismos,²⁸⁸ según estudios previos de evaluación de seis desinfectantes como: sales alcalinas, cuaternarios de amonio, yodo como yódoforo, cloro, glutaraldehído y peróxido de hidrógeno, todos los desinfectantes, salvo las sales alcalinas inactivaron dos concentraciones de *B. pilosicoli* y *B. intermedia* en menos de un minuto en presencia de materia orgánica, por lo que parece ser fácil romper el ciclo de infección entre los diferentes lotes mediante descanso de las naves durante algunos días y el uso de desinfectantes.²⁸⁷ En otro estudio realizado para determinar la sensibilidad de *B. pilosicoli* ante siete desinfectantes, se encontró que tres compuestos de cuaternarios de amonio y dos ácidos orgánicos mostraron una buena eficacia aún en presencia de materia orgánica, en contraste, un surfactante cáustico y un compuesto de peróxido de hidrógeno mostraron baja eficiencia en presencia de materia orgánica.²⁸⁹ Otro estudio para verificar la eficacia de dos desinfectantes contra *Brachyspira hyodysenteriae* y un suplemento alimenticio contra *B. hyodysenteriae* y *B. pilosicoli*, muestra un buen desempeño de dos desinfectantes con mezcla de sales de peróxido y peroximonosulfonato de potasio como ingredientes activos contra *B. hyodysenteriae*, mientras que el estudio de la eficacia de un extracto de semillas de cítricos contra *B. hyodysenteriae* y *B. pilosicoli* fueron demostradas en concentraciones de 0.05% después de 5 minutos o en concentración de 0.025% después de 10 minutos de exposición,²⁹⁰ por lo que la utilización de buenas prácticas de higiene y desinfección en las granjas es parte fundamental en el control de infecciones de origen entérico como ECP y DP.

En cuanto al sistema de aislamiento, un estudio realizado en Italia evaluó el tiempo requerido para el aislamiento de *Brachyspira hyodysenteriae* y *Brachyspira pilosicoli* a partir de heces porcinas en los medios previamente descritos S400,²⁶³ CVS,²⁶⁴ BJ,²⁶⁵ comparado con el método basado en agar sangre modificado con espectinomicina y rifampicina (BAM-SR), incluyendo un paso de pre-tratamiento. Un total de 40 aislamientos de espiroquetas fueron obtenidos en cultivo puro después de 5 días (48 hrs en BAM-SR placa primaria y tres pases cada 24 horas en ICC (sin antibiótico), el pre-tratamiento incluía colocar las muestras en ICC con espectinomicina (400 µg/ml) y rifampicina (15 µg/ml), después sembrar en medio agar sangre BAM-SR. Las espiroquetas de las muestras en S400, CVS y BJ, con y sin pre-tratamiento fueron obtenidas en cultivo puro sólo después de repetidas transferencias en platos del mismo medio selectivo, requiriendo de 15-18 días de acuerdo a la cepa. BAM-SR utilizado después del pre-tratamiento mostró una sensibilidad con límite de detección de 3.5×10^2 a 6.7×10^7 células/g de heces y fue el único medio que mostró crecimiento después de 48 horas.²⁹¹ En el presente trabajo para reducir el efecto negativo de la viabilidad, se obtuvieron las muestras directamente del recto de los animales y se utilizó un medio de cultivo en base a ICC adicionado con antibióticos 800 µg de espectinomicina, 25 µg de vancomicina y colistina, además, de 25.0 µg de rifampicina, para favorecer el crecimiento de EI e inhibir parcialmente la microbiota presente en heces. Un sistema similar fue utilizado por Calderaro, *et al.*, en 2001,²⁹² a diferencia del medio utilizado en el presente trabajo, el utilizado por Calderaro, *et al.*, que contenía suero fetal bovino (10.0%) 400 µg/ml de espectinomicina y 15 µg/ml de rifampicina, con un tiempo de contacto de 15-30 minutos antes de sembrar en medio sólido, obteniendo un resultado positivo al aislamiento. En el presente estudio el tiempo de contacto fue mayor ya que las

muestras llegaron al laboratorio al día siguiente de su colección, lo que prolongo el tiempo de contacto. Estudios desarrollados en el CIESA de la UAEM, con cepas de referencias de *B. pilosicoli* y *B. hyodysenteriae*, indicaban que la viabilidad no se veía afectada por un tiempo de contacto mayor a una suspensión de antimicrobianos, sin embargo, en aislamientos de campo se espera que la sensibilidad sea mayor.

Algunos autores reportan que puede existir susceptibilidad de *Brachyspira spp.*, a la espiramicina y a la rifampicina.^{113,173,293,294} Aunque para el caso de cepas de referencia de *Brachyspira aalborgi* han resultado susceptibles a vancomicina y resistentes a la espectinomicina, colistina y rifampicina.²⁹⁵

En México no se conoce la sensibilidad de estos microorganismos a antimicrobianos ni qué especies de EI se encuentran presentes por lo que se tiene que tomar como referencia reportes de otros países, por tanto es necesario determinar la sensibilidad de estos microorganismos. Para efectos de muestreo, el sistema de aislamiento usado en este estudio fue evaluado para conocer el nivel de sensibilidad para recuperar un número conocido de EI (*B. pilosicoli* y *B. hyodysenteriae*) en suspensión de heces (simulando muestras de campo) y conocer el tiempo de contacto de EI con los antimicrobianos usados en el medio selectivo.

Con la finalidad de obtener un cultivo puro de EI a partir del primo-aislamiento se procedió a realizar una resiembra por el método de estría continua y un intento por el método de corte del agar²⁷⁴ tomando en cuenta que son bacterias móviles y pueden desplazarse alejándose del borde de corte. Sin embargo, no hubo el desarrollo suficiente a 7 días en incubación, probablemente debido a que el número de células espiroquetales era bajo y también que algunos de estos microorganismos fueran susceptibles a alguno de los

antibióticos usados en el medio o el alto número de bacterias diferentes a *Brachyspira* pudo de igual forma inhibir el crecimiento de EI.

Uno de los factores que se han observado en casos de baja frecuencia de aislamiento de espiroquetas a partir de heces porcinas de cerdos criados en granjas comerciales es la utilización de dietas medicadas, en el caso de la información recabada el 100% (13/13) de las granjas utilizan dietas medicadas. De acuerdo a estudios publicados en Brasil se logró recuperar *Brachyspira spp* en 22 muestras de 22 (100.0%) en granjas que no estaban usando raciones medicadas, mientras que en las que estaban utilizando raciones con antimicrobianos la tasa de recuperación fue de 12.5% (2/16). *B. pilosicoli* estaba presente en 45.5% de las granjas que utilizan alimento no medicado y en 6.25% de las granjas con raciones medicadas. *B. hyodysenteriae* estaba presente en 31.8% de granjas sin medicación y en ninguna granja con ración medicada.²⁹⁶ Una investigación sobre causas de colitis en cerdos en crecimiento entre 1992 y 1996 en el Reino Unido, *B. pilosicoli* fue aislada como patógeno único en 32.9% de 85 granjas, mientras que infecciones mixtas involucrando a *B. pilosicoli* asociada con *Yersinia pseudotuberculosis* (9.4%) *Lawsonia intracellularis* (7.1%) y *B. hyodysenteriae* (2.4%), fueron encontradas en 18.9% de las granjas muestreadas.⁴⁷ Otro estudio realizado en Suecia entre 1996 y 1997 en 894 granjas de cerdos con antecedentes de diarrea, *B. hyodysenteriae* fue aislada en 27.0% mientras que *B. pilosicoli* en el 18.0%.²⁹⁷ Un estudio realizado en Finlandia en 1997 en cerdos en la fase de crecimiento en 50 granjas de máxima sanidad (Clase “LSO 2000”) mostró que en 28.0% de las granjas *B. pilosicoli* estaba siendo excretada.²⁹⁸ En todos los estudios anteriormente citados el factor común fue la no adición de medicamentos como promotores de crecimiento. En un estudio realizado por Heinonen, *et al.*, (1998), tres de cuatro granjas que no utilizan antimicrobianos presentaban *B. pilosicoli*, en cuanto a muestras de heces de 20

granjas que usaban antimicrobianos del grupo de las quinoxalinas (carbadox) y 26 granjas que usan otro producto de este mismo grupo (olaquinox) permitieron el aislamiento de *B. pilosicoli* apenas en 4 muestras (5.0%) y para el segundo caso en 38.0% de las muestras.²⁹⁸ Estas observaciones están de acuerdo con las de Fellström, *et al.*, (1996) que recuperaron *B. pilosicoli* en 7 de 15 (46.7%) granjas que no usaban antimicrobianos más no tuvieron ningún aislamiento en cuatro granjas en las que los cerdos en crecimiento estaban alimentados con raciones medicadas a base de olaquinox.²⁴⁰ La mayoría de los trabajos que han intentado determinar la relación entre la ingesta de raciones no suplementadas con antimicrobianos e infecciones intestinales por espiroquetas encontraron una relación positiva.^{206,240,262}

Existe de igual forma una relación entre el aislamiento de EI y la presencia de diarrea, por ejemplo, en algunas granjas que ocurre diarrea después de suspender la ración medicada con macrólidos u oxitetraciclina en dosis de promotores de crecimiento, lo que sugiere que la inhibición de patógenos entéricos es importante en la manifestación clínica de enfermedades entéricas en cerdos en crecimiento.²⁵⁴ Por lo que retirar la medicación en el alimento parece incrementar el aislamiento de *B. pilosicoli* de cerdos con colitis.⁴⁷ Aunque en otro estudio realizado en Finlandia no existió relación entre el aislamiento de EI y la presencia de diarreas en los cerdos monitoreados.²⁹⁸ En un estudio realizado en Dinamarca para detectar *Lawsonia intracellularis*, *Brachyspira hyodysenteriae*, EI hemolíticas parciales, *Salmonella enterica* y *Escherichia coli* hemolítica de cerdos en etapa de crecimiento con y sin diarrea se obtuvieron 11 aislamientos de EI hemolíticas parciales (7.0%), 1 (0.7%) de *B. hyodysenteriae* y 29 (19.0%) de *Lawsonia intracellularis* de cerdos con heces normales, de un total de 149 muestras y en el caso de cerdos con heces líquidas se obtuvieron 153 (30.0%) de *Lawsonia intracellularis*, 109 (21.0%) de EI hemolíticas

parciales y 64 (12.0%) de *B. hyodysenteriae* de 513 muestras.²³⁴ Para el caso del presente estudio se trató de incluir únicamente animales con desordenes digestivos pero debido a la utilización de dietas medicadas la tasa de animales con diarrea fue baja, pero se muestrearon animales con retraso en el crecimiento.

Los antibióticos predominantemente utilizados en las granjas monitoreadas fueron tiamulina, tilosina y clortetraciclinas. De acuerdo a estudios de sensibilidad de EI a antimicrobianos uno de los agentes terapéuticos de elección eficaces contra *Brachyspira spp.*, es la tiamulina,^{299,300} aunque también existen reportes de cepas de EI resistentes a tiamulina, utilizando como punto de corte $>4.0\mu\text{g/ml}$ se observó que el 11.0 % de los 94 aislamientos probados fue resistente.³⁰¹ En el programa de monitoreo de resistencia a antimicrobianos veterinarios en Suecia el punto de corte es $>2.0\mu\text{g/ml}$ (SVARM, 2003) utilizando este se han encontrado 14.0% de aislamientos resistentes a tiamulina.³⁰² Un estudio realizado en el Reino Unido para evaluar la eficacia de la tiamulina comparado con lincomicina-espectinomocina, demostró que la tiamulina brinda una mejor respuesta en el tratamiento de disentería e íleitis en comparación con la combinación de lincomicina espectinomocina.³⁰⁰ De acuerdo a un estudio publicado en la República Checa el 89.5 % de los aislados de *Brachyspira hyodysenteriae* fueron susceptibles a tiamulina, excepto uno medianamente susceptible y un aislamiento resistente,³⁰³ en Australia el 87.7% de las cepas de *Brachyspira* fueron sensibles a la acción de la tiamulina.³⁰⁴ En Bélgica, el 94.4% de aislados de EI fueron sensibles a tiamulina,²¹⁷ mientras que en Canada y Dinamarca el 100% de aislados lo fueron.^{301,305} Para el caso de la tilosina sólo uno de 17 aislamientos de *B. hyodysenteriae* fue susceptible y 94.1% de los aislados fueron resistentes.³⁰³ Similares

resultados fueron encontrados para este antibiótico en Bélgica dónde el 97.3% de *B. hyodysenteriae* fueron resistentes,²¹⁷ el 100% fue resistente en Dinamarca³⁰¹ y Australia.³⁰⁶ Sensibilidad a la valnemulina ha sido reportada, por ejemplo, 17 cepas (89.5%) de *Brachyspira hyodysenteriae* fueron inhibidas a un nivel de 0.064 µg/ml, un aislado por 2.0 µg/ml y otro por 8.0 µg/ml.³⁰³ En México no existen reportes sobre la utilización de valnemulina contra enfermedades entéricas. A pesar de la gran cantidad de estudios realizados para determinar la sensibilidad, existen muchas diferencias entre los valores de concentraciones mínimas inhibitorias en los trabajos publicados, una posible explicación para el caso de *B. pilosicoli* sería que más de una clona puede estar afectando la misma granja,³⁰⁷ sin embargo hay aislamientos resistentes a tiamulina pero susceptibles a otros antibióticos como la doxiciclina y la salinomicina.³⁰² Karlsoon, *et al.*, identificaron una mutación a nivel del gen 23S rARN que genera resistencia a los macrólidos en *B. hyodysenteriae*.^{220,308} En el presente estudio no se puede afirmar resistencia o susceptibilidad en los aislamientos porque no se realizó ningún estudio de susceptibilidad a antibióticos, aunque se podría argumentar que la utilización de dietas medicadas afecta la tasa de aislamiento en cultivo de EI a partir de heces.

Un estudio realizado en México para conocer la prevalencia de las enfermedades más comunes en empresas porcinas ubicadas en los estados de Sonora, Jalisco, Puebla, Yucatán y la zona del Bajío, encontró como principales patógenos al virus de PRRS en 38.0% de los casos, *Haemophilus parasuis* en 12.0%, virus de la Influenza porcina en un 18.0%, *Mycoplasma hyopneumoniae* en 27.0%, Parvovirus porcino en 5.0%, *Actinobacillus pleuropneumoniae* en 12.0%, *Salmonella enterica* en 48.0%, *Lawsonia intracellularis* en 8.0% y Circovirus Porcino en 33.0%,³⁴ lo que hace ver que en México aún no se habla de la

situación epidemiológica de las EI pero este primer monitoreo servirá de base para un estudio a nivel nacional para conocer la prevalencia de EI en granjas comerciales con diferentes grados de tecnificación y así poder estimar la importancia de estos microorganismos en las enfermedades entéricas del cerdo.

Existen otras medidas de manejo además de la administración de dietas medicadas en las granjas porcinas que pudieran influir en el aislamiento de EI, entre los más importantes figuran las prácticas de TD-TF, limpieza y desinfección, la introducción de animales libres de enfermedad, la utilización de bebederos de chupón y manejo de grupos de un mismo lote y de una misma edad, así como las medidas básicas de bioseguridad en las granjas como presencia de barda perimetral y no permitir acceso a personas a la granja y el control de roedores. Harris, (2000) propone un programa de erradicación de EI sin despoblación, el cuál consiste en medicar a las hembras con antibióticos a los que sea susceptible *Brachyspira spp.*, además de establecer programas sanitarios y la eliminación de roedores. Otra medida de control propuesta por este autor es la eliminación por medio de destete medicado (ISOWEAN) el cual consiste en medicar a la hembra por todo el tiempo que dure la lactación.³⁰⁹

Los primo-aislamientos obtenidos del presente estudio serían compatibles con *B. pilosicoli*, ya que fueron recuperados de cerdos de 6-12 semanas, periodo en el cual se reporta la infección más común por este agente,^{115,221,222} y las lesiones macroscópicas observadas en colon y ciego como edema en la superficie serosa, aumento de tamaño de linfonodos mesentéricos, áreas de erosión multifocal y necrosis, congestión y engrosamiento de la mucosa colónica con exudado fibrinoso adherido, además de contenido grisáceo y acuoso, lo cual ha sido descrito.^{47,147,222,247,260} En casos crónicos las zonas hemorrágicas de la mucosa son cubiertas con fibrina, material necrótico y restos de alimento son observados

como adhesiones cónicas. Los hallazgos patológicos de ECP nunca son tan severos como los de la DP.^{147,222,247}

Los cambios histopatológicos también coinciden con las descripciones de la infección con *B. pilosicoli*, que han sido descritos como colitis erosiva multifocal con gran cantidad de bacterias adheridas por un extremo a la superficie del epitelio intestinal,^{147,221,247,260,294} formando un falso borde de cepillo el cual es considerado característico de esta enfermedad, aunque este último hallazgo mencionado no siempre se ve en condiciones de infección natural, como es el caso de los cerdos monitoreados, se observa un incremento en el número de células Goblet y el tipo y número de células inflamatorias incluye mononucleares y polimorfonucleares.^{105,256} Hay dilatación de criptas intestinales conteniendo gran cantidad de moco y detritus celulares que podría originar abscesos en las criptas.^{147,206,247}

La presencia de *Balantidium coli* en grandes cantidades en el epitelio intestinal en conjunción con la infección por *B. pilosicoli* observada en los cortes de tejido ha sido reportada.^{146,221,253,256}

Por características de cultivo y lesiones macro y microscópicas se descarta la infección con *B. hyodysenteriae*, que en casos de DP el colon es el órgano afectado, las lesiones varían desde la forma catarral hasta la inflamación marcada con excesiva producción de moco, necrosis, hemorragia y formación de pseudomembranas. Microscópicamente se observan criptas hiperplásicas con moco, hiperplasia de células goblet y edema en la mucosa con congestión.^{278,310,311} En casos avanzados, se observa erosión superficial y exudado muco fibrinoso con neutrófilos y detritus celulares.^{310,311} Inicialmente la respuesta inflamatoria celular es mínima pero con el paso de algunos días aparece una mezcla de células

inflamatorias en la superficie de la lámina propia y las espiroquetas pueden ser visualizadas algunas veces libres en el citoplasma de las células Goblet y enterocitos.³¹⁰

CAPÍTULO 5: CONCLUSIONES

A pesar de no lograr aislamiento en cultivo puro del microorganismo en estudio, se concluye que los primo-aislamientos obtenidos y las lesiones observadas en tejido indican la presencia de *Brachyspira spp.* en cerdos criados en granjas comerciales del estado de Sonora, México.

Aunque los primo-aislamientos obtenidos no hayan sido identificados por pruebas bioquímicas, las características de cultivo y las lesiones encontradas en los animales coinciden con la descripción de la infección causada por *B. pilosicoli* y debido a que este agente se ha aislado de cerdos en México de otras zonas de producción en las que el uso de antimicrobianos en la dieta no se aplica, se argumenta que el uso de estos agentes pudo interferir en el cultivo de *Brachyspira spp.* en el laboratorio.

El diagnóstico morfológico microscópico de cortes de tejido intestinal fue colitis linfoplasmocitaria en grados de ligero hasta severo, siendo las lesiones más importantes compatibles con las causadas por *B. pilosicoli* y fueron, epitelios aplanados y en fase cúbica, infiltración mononuclear en el lamina propia, congestión de la lamina propia, criptas con detritus celulares, hiperplasia de las criptas e hiperplasia de células caliciformes. Otros hallazgos que coinciden es la presencia de *Balantidium coli* y algunas bacterias adheridas al epitelio.

Los factores que pudieron haber influido en una baja frecuencia de recuperación de EI son: la viabilidad del microorganismo, la medicación masiva y constante en las dietas de los animales, la utilización de los sistemas TD-TF, programas de limpieza y desinfección entre lotes de animales, la utilización de programas de control de vectores y el hecho de que son

granjas cerradas, sin embargo se requiere un número mayor de muestra para poder determinar factores de riesgo asociados a la presencia de EI en las granjas.

El uso de antimicrobianos podría retardar la infección por EI en cerdos producidos en sistemas comerciales en México, lo cual requeriría monitorear cerdos de mayor edad o granjas que no usen medicación en la dieta. También este punto podría abordarse desde la perspectiva de eficacia de los esquemas de medicación para el control de agentes enteropatógenos como EI.

ANEXOS

Anexo 1. Encuesta:

**ENCUESTA PARA ESTUDIO-INVESTIGACIÓN EPIDEMIOLOGICA DE
ESPIROQUETAS INTESTINALES EN CERDOS**

Instrucciones: Llenar los espacios en blanco y marcar con una "X" la opción adecuada para el tipo y manejo utilizado en la granja.

I. IDENTIFICACIÓN Y DATOS GENERALES DE LA GRANJA	
Fecha	Número de referencia:
Nombre encuestado	
Puesto	<i>Dueño</i> <i>MVZ</i> <i>Trabajador</i> <i>Administrador</i> <i>Otro, cuál _____</i>
Nombre Granja	
Localidad	Municipio Estado

TAMAÑO DE LA GRANJA (♀s)

TIPO DE PRODUCCIÓN

Ciclo Completo *Productora lechón* *Engorda* *Pie de cría*

II. FORMA DE REEMPLAZO EN LA GRANJA
--

Tipo de granja	Tipo de animales que introduce
<i>Abierta</i> <i>Cerrada</i>	<i>Machos</i> <i>Hembras</i> <i>Semen</i>
Fuente (s) Introd. ♂s:	Fuente (s) Introd. ♀s:
Frecuencia	Frecuencia
<i>Mes Fuente Semen:</i>	<i>Mes Frecuencia Introducción Semen:</i>

III. LECHONES

Manejo	Destete (días)				TD/TF	Mezclado por tamaños			
	21	28	30	35	Otro Cuál:	SI	NO	SI	NO
Enfermedad	Casos de Diarrea				Casos de Neumonía				
	SI			NO	SI			NO	
	Diarrea (días)				Neumonía (días)				
	Neonatal	7	14	21	7	14	21	28	
	Tipo de diarrea				Tipo de neumonía				

Número de animales afectados

Número de animales afectados

Antibiótico utilizado

Antibiótico utilizado

Dosis utilizada

Dosis utilizada

	Duración tratamiento		<i>Duración tratamiento</i>	
	Porcentaje de Mortalidad			

1-5%

5-10%

10-15%

15-20%

Instalación

Tipo de piso

	Malla acero			Rejilla ahulada			Cemento paja	
Alimentación	Preiniciador				Tipo de alimento			
	SI	NO	10 días	15 días	Alimento comercial, cuál:	Alimento preparado en la granja	Se compran bases y se mezcla en granja	Otro, cuál_____

**Composición
dieta**

**Composición
Desconocida**

**Medicación/
Suplement.**

Antibióticos

Cuál Antibiótico

	SI	NO	Tiamulina	Tilosina	Tetraciclinas	Carbadox	Otro, cuál_
--	----	----	-----------	----------	---------------	----------	----------------

Vía de administración

Dosis aplicada

	Inyectado	Oral	
	Duración del tratamiento		
	Probióticos		

SI

NO

Levaduras

Lactobacilos

**Medicina
preventiva**

Inmunizaciones (Laboratorios)

IV. DESTETADOS	

Manejo

Tamaño de grupos

Permanencia (semanas)

Camada	5	<20	21-40	>40	1	2	4	6	8	10
--------	---	-----	-------	-----	---	---	---	---	---	----

Número cerdos/ edificio-nave

TD/TF

**Mezclado
por tamaños**

<100	101-200	201-400	>400	SI	NO	SI	NO
------	---------	---------	------	----	----	----	----

Enfermedad

Casos de Diarreas

Casos de Neumonías

SI				NO				SI				NO
Diarreas posdestete (semanas)					Neumonías posdestete (semanas)							
1	2			3	1	2			3			
Diarreas a semanas de edad					Neumonías a semanas de edad							
6	8	10			12	6	8	10			12	
Tipos de diarreas					Tipos de neumonías							
Número de animales afectados					Número de animales afectados							

Antibiótico utilizado

Antibiótico utilizado

Dosis utilizada

Dosis utilizada

Duración del tratamiento

Duración del tratamiento

	Porcentaje de cerdos retrasados					Porcentaje de mortalidad				
	NO	1-5%	5-10%	11-15%	>20%	<1%	1-5%	5-10%	10-15%	15-20%

Alimentación

Suplemento lácteo en dieta

Presentación del alimento

NO	<2%	2-5%	5-10%	No conocido	Pellet	Harina	Líquido
----	-----	------	-------	-------------	--------	--------	---------

	Tipo de alimento			
--	-------------------------	--	--	--

Alimento comercial, cuál _____	Se compran bases y se mezcla en la granja	Alimento preparado en la granja	Otro, cuál _____
--------------------------------	---	---------------------------------	------------------

Composición dieta

Composición desconocida

Instalaciones

Tipo corral

Comederos (bocas X cerdo)

Jaula elevada piso de rejilla	Jaula elevada piso de cemento rejilla	Corral cemento/ piso de madera	Corral cemento/ piso de cemento	Tolva 1 X 1	Tolva 1 X 5	Tolva 1 X 10	Tolva 1 X 15	<i>Tipo holandés</i>
-------------------------------	---------------------------------------	--------------------------------	---------------------------------	-------------	-------------	--------------	--------------	----------------------

Tipo bebedero

Bebederos X cerdo

<i>Chupón</i>	<i>Taza</i>	<i>Comunal</i>	<i>1 X 5</i>	<i>1 X 10</i>	<i>1 X 15</i>	<i>1 X 20</i>
---------------	-------------	----------------	--------------	---------------	---------------	---------------

	Calefacción			
--	--------------------	--	--	--

	SI		NO							
Medicación/ Suplement.	Promotor de crecimiento								Cuál	
	SI	NO	Desconocido	Tiamulina	Tilosina	Tetraciclinas	Carbadox	<i>Otro, cuál</i>		
	Vía de administración								Dosis	

	Oral	Inyectado	
	Cuánto tiempo (semanas)		
	<i>1 Semana</i>	<i>2 Semanas</i>	<i>4 Semanas</i>
			<i>6 Semanas</i>

Medicina preventiva	Inmunizaciones (Laboratorios)
V. CRECIMIENTO	

Manejo	Tamaño de grupos				Permanencia (semanas)			
	<20	21-30	31-40	>40	4	6	8	10
	Número cerdos/edificio-nave				TD/TF	Mezclado por tamaños		
	<100	101-200	201-400	>400	SI	NO	SI	NO

Enfermedad	Diarreas				Neumonías					
	SI	NO			SI	NO				
	Diarreas a semanas de edad				Neumonías a semanas de edad					
	< 14	14	16	18	20	< 14	14	16	18	20
	Tipo de diarrea				Tipo de neumonía					

Número de animales afectados

Número de animales afectados

Antibiótico utilizado

Antibiótico utilizado

Dosis utilizada

Dosis utilizada

	Duración del tratamiento					Duración del tratamiento				

	Porcentaje de cerdos retrasados					Porcentaje de mortalidad				
NO	<1%	1-5%	5-10%	11-15%	>15%	<1%	1-5%	5-10%	10-15%	15-20 %

Instalación	Tipo de corral				Tipo de piso			
	Cemento, paredes	Cemento metal	Metal comuni-	Charca	Slat Parcial	Slat Total	Todo Cemento	<i>Cemento Con Paja</i>

	sólidas	cados			Bebederos por cerdo			
	Tipo de bebedero							
	<i>Chupón</i>	<i>Taza</i>	<i>Comunal</i>	<i>1 X 5</i>	<i>1 X 10</i>	<i>1 X 15</i>	<i>1 X 20</i>	
	Comederos (bocas por cerdo)							
	Tolva 1 X 1	Tolva 1 X 5	Tolva 1 X 10	Tolva 1 X 15	<i>Tipo holandés</i>			
Alimenta	Presentación alimento				Tipo alimento			
	Pellet	Harina	Semisólido	Líquido	Alimento comercial, cuál_____	Alimento preparado en la granja	Se compran bases y se mezcla en granja	<i>Otro, cuál_____</i>
Composición dieta					Composición desconocida			
Medicación aditivos	Promotor de crecimiento				Cuál			
	SI	NO		Tiamulina	Tilosina	Tetraciclina	Carbadox	<i>Otro, cuál_____</i>
	Vía de administración				Dosis			
	<i>Oral</i>	<i>Inyectado</i>						
	Cultivos levaduras				Acidificantes			
	SI		NO		SI		NO	
Medicina preventiva	Inmunizaciones (Laboratorios)							

VI. ENGORDA

Manejo	Tamaño de grupos				Permanencia (semanas)			
	<20	21-60	61-100	>100	4	6	8	10
	Número cerdos/ edificio-nave				TD/TF		Mezclado por tamaños	
	<100	101-200	201-400	>400	SI	NO	SI	NO
Enfermedad	Diarreas				Neumonías			
	SI		NO		SI		NO	
	Diarreas a semanas de edad				Neumonía a semanas de edad			
	14	16	18	20	14	16	18	20
	Tipo de diarrea				Tipo de neumonía			
	Número de animales afectados				Número de animales afectados			
	Antibiótico utilizado				Antibiótico utilizado			

Dosis utilizada					Dosis utilizada					
Duración del tratamiento					Duración del tratamiento					
	Porcentaje de cerdos retrasados				Porcentaje de mortalidad					
	No	1-5%	5-10%	11-15%	>15%	< 1%	1-5%	5-10 %	10-15%	15-20%
Instalación	Tipo de corral				Tipo de piso					
	Cemento, paredes sólidas	Cemento metal	Metal comunicados	Charca	Slat parcial	Slat total	Cemento	Cemento con paja		
	Tipo bebedero				Bebederos por cerdo					
	Chupón	Taza	Comunal	1 X 5	1 X 10	1 X 15	1 X 20			
	Comederos (bocas por cerdo)									
	Tolva 1 X 1	Tolva 1 X 5	Tolva 1 X 10	Tolva 1 X 15	Tipo holandés					
Alimenta	Presentación del alimento				Tipo de alimento					
	Pellet	Harina	Semisólido	Líquido	Alimento comercial, cuál__	Se compran bases y se mezclan en granja	Alimento preparado en la granja	Otro, cuál__		
Composición dieta	Energía /Proteína									
	Sorgo/soya		Trigo/soya		Maíz/ soya					
Medicación/ Aditivos	Promotor de crecimiento				Cuál					
	SI	NO	Tiamulina	Tilosina	Tetraciclinas	Carbadox	Otro			
	Vía de administración				Dosis proporcionada					
	Oral	Inyectado								
	Cultivos levaduras				Acidificantes					
	SI	NO	SI	NO						
Medicina preventiva	Inmunizaciones (Laboratorios)									
	VII. REEMPLAZOS									
Origen	Fuente (empresas)									
Manejo	Tamaño de grupos				Permanencia antes del servicio (semanas)					

	<20	>20	>2	2-4	4-6	6-8	>8
Enfermedad	Presencia de diarreas			Presencia de neumonías			
	SI	NO	SI	NO			
	Tipo de diarrea			Tipo de neumonía			
	Numero de animales afectados			Numero de animales afectados			
	Antibiótico utilizado			Antibiótico utilizado			
	Dosis utilizada			Dosis utilizada			

	Duración del tratamiento			Duración del tratamiento	
	Porcentajes de mortalidad				
	<1%	1-5%	5-10%	10-15%	15-20%

Instalaciones	Tipo de corral				Tipo de piso			
	<i>Cemento paredes sólidas</i>	<i>Cemento metal</i>	<i>Metal comunicados</i>	<i>Charca</i>	<i>Slat parcial</i>	<i>Slat Total</i>	<i>Cemento</i>	<i>Cemento con paja</i>
	Tipo bebedero							
	Chupón			Taza		Comunal		

Medicina preventiva	Inmunizaciones (Laboratorios)			
	Manejo de excretas			
	No	15 días	30 días	45 días

IX. BIOSEGURIDAD

Instalación	Acceso de personas a granja		Se proporciona ropa para acceso			
	SI	NO	SI	NO		
	Barda perimetral		Se proporciona calzado para acceso			
	SI	NO	SI	NO		
Control de fauna	Presencia fauna nociva		Que tipo			
	SI	NO	Perros	Aves	Roedores	Otro, Cual

*Programas de control de fauna nociva**Que tipo de programa*

	SI	NO	
	<i>Con que frecuencia</i>		
Comentarios finales			

Anexo 2: Codificación de la encuesta

Manual de Codificación de la Encuesta

Folio	Nombre	Tipo	Codificación	Observaciones
--------------	---------------	-------------	---------------------	----------------------

1	Fecha	Fecha	Día/ Mes /Año	<i>Fecha de aplicación de la encuesta</i>
2	No_ref	Numérica	1-100	<i>Dependerá del número de granjas incluidas en el estudio</i>
3	Encues	Texto	Texto	<i>Nombre de la persona que respondió la encuesta</i>
4	Puesto	Numérica nominal	1.- Dueño 2.- MVZ 3.- Trabajador 4.- Administrador 5.- Otro, cuál _____	<i>Puesto que ocupa en la granja la persona que responde la encuesta</i>
5	Granja	Texto	Texto	<i>Nombre de la granja</i>
6	Direc	Texto	Texto	<i>Dirección o localización de la granja</i>
7	Poblado	Texto	Texto	<i>Nombre de la comunidad</i>
8	Mpo	Numérico	1, 2, 3, 4, 5,	<i>Número correspondiente del municipio</i>
9	Estado	Numérico	1, 2, 3, ... 33	<i>El número del estado corresponderá a una lista de orden alfabético de los estados de la Republica Mexicana</i>
10	Pob_H_g	Número Ordinal	1= <100 2= 101-200 3= 201-400 4= 401-800 5= > 800	<i>Población de hembras agrupadas en rangos</i>
11	Tip_pro	Numérica nominal	1= Ciclo completo 2= Productora lechón 3= Engordadora 4= Productora pie de cría	<i>Clasificación del tipo de granja</i>
FORMA DE REEMPLAZO EN LA GRANJA				
12	Tipo_gr	Numérica nominal	1= Abierta 2= Cerrada	<i>Tipo de granja, se considera abierta al introducir animales o</i>

				<i>semen</i>
13	Tipo_an	Numérica nominal	1= Machos 2= Hembras 3= Semen	<i>Tipo de animales que se introducen o semen</i>
14	Fue_im	Texto	Texto	<i>Nombre de la empresa de donde proceden los machos</i>
15	Frec_i	Numérica	1= Mes 2= Cada 3 mes 3= Cada 6 meses 4= Cada año 5= Cada 2 años 9= No sabe/ no contesta	<i>Frecuencia de introducción Machos</i>
16	Fue_im	Texto	Texto	<i>Nombre de la empresa de donde proceden las hembras</i>
17	Frec_i	Numérica	1= Mes 2= Cada 3 mes 3= Cada 6 meses 4= Cada año 5= Cada 2 años 9 = No sabe	<i>Frecuencia de introducción de hembras</i>
18	Fue_s	Texto	Texto	<i>Nombre de la empresa de donde se obtiene el semen</i>
19	Frec_i	Texto	Texto	<i>Frecuencia de introducción del semen</i>
LECHONES				
20	Dest_d	Numérica Ordinal	1= 21 días. 2= 28 días. 3= 30 días. 4= 35 días. 5= Otro, cuál_____	<i>Edad del lechón al destete (días)</i>
21	TD_TF	Dicotómica	0 = Si 1= No	<i>Aplicación del sistema TD-TF</i>
22	Mez_ta	Dicotómica	0= No 1= Si	<i>Mezcla animales de distintas camadas, tallas y pesos</i>
23	Diarrea	Dicotómica	0= No 1= Si	<i>Se registran episodios de diarrea</i>
24	Diarrea_e	Numérica	1= Neonatal 2= 7 días. 3= 14 días. 4=21 días.	<i>Número de días a los cuales se presenta normalmente diarrea</i>

			9= No sabe / no contesta	
25	Tipo_d	Texto	Texto	<i>Tipo de diarrea (hemorrágica, mucoide, etc.)</i>
26	Anim_afe	Texto	Texto	<i>Número de animales afectados</i>
27	Ant_uti	Texto	Texto	<i>Antibiótico utilizado como tratamiento para la diarrea</i>
28	Dosis	Texto	Texto	<i>Dosis utilizada del antibiótico</i>
29	Dura_tra	Texto	Texto	<i>Duración del tratamiento en días</i>
30	Neumonía	Dicotómica	0= No 1= Si	<i>Se registran episodios de neumonía</i>
31	Neumo_e	Numérica	1= 7 días. 2= 14 días. 3= 21 días. 4= 28 días. 9= No sabe / no contesta	<i>Número de días en los que se presenta normalmente neumonía</i>
32	Tipo_n	Texto	Texto	<i>Tipo de neumonía que predomina</i>
33	Anim_afe	Texto	Texto	<i>Número de animales afectados</i>
34	Ant_uti	Texto	Texto	<i>Antibiótico utilizado como tratamiento para la neumonía</i>
35	Dosis	Texto	Texto	<i>Dosis utilizada del antibiótico</i>
36	Dura_tra	Texto	Texto	<i>Duración del tratamiento en días</i>
37	Mortali	Numérica ordinal	1= 1.0-5.0% 2= 5.0-10.0% 3= 10.0-15.0% 4= 15.0-20.0%	<i>Porcentaje de mortalidad en esta etapa</i>
38	Tipo_m_p	Numérica nominal	1= Rejilla acero 2= Rejilla ahulada 3= Cemento paja	<i>Tipo de material utilizado en el piso</i>
39	Preinic	Dicotómica	0= Si 1= No	<i>Se proporciona alimento preiniciador</i>
40	Preinic	Numérica	1= 10 días. 2= 15 días.	<i>Días a los cuales se le proporciona alimento preiniciador a los lechones</i>

41	Tip_ali	Numérica nominal	1= Alimento comercial 2= Alimento preparado dentro de la granja 3= Se compran bases y se mezclan en granja. 4= Otro, cuál_____	<i>Tipo de alimento proporcionado en esta etapa</i>
42	Comp_di	Texto		<i>Composición de la dieta proporcionada a los lechones</i>
43	Antibio	Dicotómica	0= Si 1= No	<i>Se realiza la aplicación de algún antibiótico</i>
44	Via_adm	Numérica nominal	1= Inyectado 2= Oral	<i>Vía de administración del antibiótico</i>
45	Tipo-ant	Numérica nominal	1.- Tiamulina 2.- Tilosina 3.- Tetraciclinas 4.- Carbadox 5.- Otro, cuál _____	<i>Nombre del antibiótico utilizado</i>
46	Dura_trat	Texto	Texto	<i>Duración del tratamiento en días</i>
47	Probiot	Dicotómica	0= Si 1= No	<i>Utilización de probióticos</i>
48	Tip_pro	Numérica Nominal	1= Levaduras 2= Lactobacilos	<i>Tipo de probiótico proporcionado</i>
49	Immuniza	Texto	Texto	<i>Nombre de las vacunas aplicadas, nombre comercial o laboratorio</i>
DESTETADOS				
50	Tam_gru	Numérica ordinal	1= Camada 2= 5 3= < 20 4= 21-40 5= > 40	<i>Tamaño de los grupos de manejo de cerdos en esta etapa</i>
51	Perm	Numérica	1= 1 Semana 2= 2 Semanas 2= 4 Semanas 3= 6 Semanas 4= 8 Semanas 5= 10 Semanas	<i>Duración y/o permanencia en semanas de la etapa de destete</i>
52	Cer_edi	Numérica ordinal	1= < 100 2= 101-200	<i>Número de cerdos por edificio o por nave</i>

			3= 201-400 4= >400	
53	TD_TF	Dicotómica	0= Si 1= No	<i>Utilización del sistema TD/TF</i>
54	Mez_ani	Dicotómica	0= No 1= Si	<i>Mezcla de animales</i>
55	Diarrea	Dicotómica	0= No 1= Si	<i>Se registran episodios de diarrea</i>
55	Dia_pos	Numérica	1= 1 Semana 2= 2 Semanas 3= 3 Semanas 9= No sabe/ no contesto	<i>Semanas posdestete a las que se presentan diarreas</i>
56	Eda_diar	Numérica	1= 6 Semanas 2= 8 Semanas 3= 10 Semanas 4= 12 Semanas 9= No sabe/ no contesto	<i>Edad en semanas a las que se presentan diarreas</i>
57	Tipo_d	Texto	Texto	<i>Tipo de diarrea (hemorrágica, mucoide, etc.)</i>
58	Anim_afe	Texto	Texto	<i>Número de animales afectados</i>
59	Ant_uti	Texto	Texto	<i>Antibiótico utilizado</i>
60	Dosis	Texto	Texto	<i>Dosis utilizada del antibiótico</i>
61	Dura_tra	Texto	Texto	<i>Duración del tratamiento</i>
62	Neumo	Dicotómica	0= No 1 = Si	<i>Existen casos de neumonías</i>
63	Dia_pos	Numérica	1= 1 Semana 2= 2 Semanas 3= 3 Semanas 9= No sabe/ no contesto	<i>Semanas posdestete a las que se presenta las neumonías</i>
64	Eda_diar	Numérica	1= 6 Semanas 2= 8 Semanas 3= 10 Semanas 4= 12 Semanas 9= No sabe	<i>Edad en semanas a las que se presentan neumonías</i>
65	Tipo_n	Texto	Texto	<i>Tipo de neumonía</i>
66	Anim_afe	Texto	Texto	<i>Número de animales afectados</i>
67	Ant_uti	Texto	Texto	<i>Antibiótico utilizado como tratamiento</i>

68	Dosis	Texto	Texto	<i>Dosis utilizada del antibiótico</i>
69	Dura_tra	Texto	Texto	<i>Duración del tratamiento en días</i>
70	Cer_Ret	Numérica ordinal	1= 5.0–10.0 % 2= 11.0– 5.0 % 3= >20.0 % 4= No 9= No sabe/ no contesto	<i>Porcentaje de cerdos retrasados en crecimiento</i>
71	Mortali	Numérica ordinal	1= 1.0-5.0 % 2= 5.0–10.0 % 3= 10.0–15.0 % 4= 15.0–20.0 %	<i>Porcentaje de mortalidad en esta etapa</i>
72	Sup-lac	Numérica ordinal	0 = No 1= < 2.0 % 2= 2.0–5.0 % 3= 5.0–10.0 % 9 = No sabe / no contesto	<i>Porcentaje de inclusión de suplemento lácteo en la dieta</i>
73	Pres_al	Numérica nominal	1= Pellet 2= Harina 3= Líquido	<i>Presentación del alimento utilizado en la etapa de destete</i>
74	Tip_ali	Numérica nominal	1= Alimento comercial 2= Alimento preparado en granja 3= Se compran bases y se mezclan en granja 4= Otro, cuál _____	<i>Tipo de alimento proporcionado en esta etapa</i>
75	Comp_di	Texto	Texto	<i>Composición de la dieta de la etapa de destete</i>
76	Tipo_c	Numérica nominal	1= Jaula elevada c/piso rejilla 2= Jaula elevada, piso cemento y rejilla 3= Corral cemento piso madera 4= Corral cemento piso cemento	<i>Tipo de instalaciones utilizadas para el área de destete</i>
77	Boc_c	Numérica nominal	1= Tolva 1 X 1 2= Tolva 1 X 5 3= Tolva 1 X 10 4= Tolva 1 X 15	<i>Número de bocas por cerdo</i>

			5= Tipo Holandés	
78	Tip_beb	Numérica nominal	1= Chupón 2= Taza 3= Comunal	<i>Tipo de bebedero en área de destete</i>
79	Num_beb	Numérica ordinal	1= 1X 5 2= 1X10 3= 1X15 4= 1X20	<i>Número de bebederos por cerdo</i>
80	Calef	Dicotómica	0= Si 1= No	<i>Utilización de sistemas de calefacción</i>
81	Prom_c	Dicotómica	0= Si 1= No 9 = No sabe/no contesta	<i>Utilización de promotores de crecimiento</i>
82	Tip_prom	Numérica nominal	1= Tiamulina 2= Tilosina 3= Tetraciclinas 4= Carbadox 5= Otro, cual _____ 9= No sabe/ no contesto	<i>Nombre del tipo de promotor que se esta utilizando</i>
83	Tie_sem	Numérica	1= 2 Semanas 2= 4 Semanas 3= 6 Semanas 9= No sabe/ no contesto	<i>Tiempo en semanas que dura la aplicación del promotor</i>
84	Via_ad	Numérica nominal	1= Oral 2= Inyectado	<i>Vía de aplicación del antibiótico</i>
85	Dosis	Texto	Texto	<i>Dosis aplicada</i>
86	Immuniza	Texto	Texto	<i>Nombre de las vacunas aplicadas en esta etapa y su nombre comercial y/o laboratorio</i>
CRECIMIENTO				
87	Tam_gru	Numérica ordinal	1= < 20 2= 21-30 3= 31-40 4= >40	<i>Tamaño de los grupos de animales en esta etapa</i>
88	Perm	Numérica	1= 4 Semanas 2= 6 Semanas 3= 8 Semanas 4= 10 Semanas	<i>Permanencia en semanas de los animales en esta etapa</i>
89	Cer_edi	Numérica ordinal	1=< 100 2= 101-200	<i>Número de cerdos por edificio o por nave</i>

			3= 201-400 4= >400	
90	TD_TF	Dicotómica	0= Si 1= No	<i>Aplicación del sistema TD-TF</i>
91	Mez_ani	Dicotómica	0= No 1= Si	<i>Mezclado de animales</i>
92	Diarrea	Dicotómica	0= No 1= Si	<i>Se registran episodios de diarrea</i>
93	Diarre_e	Numérica	1= < 14 semanas 2= 14 Semanas 3= 16 Semanas 4= 18 Semanas 5= 20 Semanas 9 = No sabe / no contesta	<i>Semanas de edad a las se observan casos de diarrea</i>
94	Tipo_d	Texto	Texto	<i>Tipo de diarrea (hemorrágica, mucoide, etc.)</i>
95	Anim_afe	Texto	Texto	<i>Número de animales afectados</i>
96	Ant_uti	Texto	Texto	<i>Antibiótico utilizado como tratamiento para la diarrea.</i>
97	Dosis	Texto	Texto	<i>Dosis utilizada del antibiótico</i>
98	Dura_tra	Texto	Texto	<i>Duración del tratamiento en días</i>
99	Neumo	Dicotómica	0= No 1 = Si	<i>Existe la presencia de neumonías</i>
100	Neumo_e	Numérica	1= < 14 semanas 2= 14 Semanas 3= 16 Semanas 4= 18 Semanas 5= 20 Semanas 9 = No sabe / no contesta	<i>Semanas de edad a las que se presentan neumonías</i>
101	Tipo_n	Texto	Texto	<i>Tipo de neumonía que predomina</i>
102	Anim_afe	Texto	Texto	<i>Número de animales afectados</i>
103	Ant_uti	Texto	Texto	<i>Antibiótico utilizado como tratamiento para la neumonía</i>
104	Dosis	Texto	Texto	<i>Dosis utilizada</i>
105	Dura_tra	Texto	Texto	<i>Duración del tratamiento</i>

106	Cerd_re	Numérica ordinal	1= No 2= < 1.0 % 3= 1.0 – 5.0 % 4= 5.0 – 10.0 % 5= 11.0 - 15.0 % 6= >15.0 %	<i>Porcentaje de cerdos retrasados</i>
107	Mortali	Numérica ordinal	1= < 1.0 % 2= 1.0 - 5.0 % 3= 5.0 – 10.0 % 4= 10.0 – 15.0 % 5= 15.0 – 20.0 %	<i>Porcentaje de mortalidad en esta etapa</i>
108	Tipo_c	Numérica nominal	1= Cemento paredes sólidas 2= Cemento metal 3= Metal comunicados 4= Charcas	<i>Material con el que están hechos los corrales de esta etapa</i>
109	Tipo_p	Numérica nominal	1= Rejilla parcial 2= Rejilla total 3= Todo cemento 4= Cemento con paja	<i>Material de que están hechas las instalaciones</i>
110	Tipo_b	Numérica nominal	1= Chupón 2= Taza 3= Comunal	<i>Tipos de bebederos</i>
111	Num-beb	Numérica	1= 1X5 2= 1X10 3= 1X15 4= 1X20	<i>Número de bebederos por cerdo</i>
112	Come_c	Numérica nominal	1= Tolva 1 X 1 2= Tolva 1 X 5 3= Tolva 1 X 10 4= Tolva 1 X 15 5= Tipo holandés	<i>Número de bocas por cerdo</i>
113	Pres_al.	Numérica nominal	1= Pellet 2= Harina 3= Semisólido 4= Líquido	<i>Tipo de presentación del alimento</i>
114	Tip_ali	Numérica nominal	1= Alimento comercial 2= Alimento preparado en granja 3= Se compran bases y se mezclan 4= Otro, cuál_____	<i>Tipo de alimento proporcionado en esta etapa</i>
115	Comp_di	Texto	Texto	<i>Composición de la dieta</i>

116	Prom_c	Dicotómica	0= Si 1= No	<i>Utilización de promotores</i>
117	Tipo_pr	Numérica nominal	1= Tiamulina 2= Tilosina 3= Tetraciclinas 4= Carbadox 5= Otro, cuál _____	<i>Nombre del promotor de crecimiento utilizado</i>
118	Via_ad	Numérica nominal	1= Oral 2= Inyectado	<i>Vía de aplicación del antibiótico</i>
119	Dosis	Texto	Texto	<i>Dosis aplicada</i>
120	Cult_le	Dicotómica	0= Si 1= No	<i>Utilización de cultivos de levaduras</i>
121	Acidi	Dicotómica	0= Si 1= No	<i>Utilización de acidificantes en dieta</i>
122	Immuniza	Texto	Texto	<i>Nombre de las vacunas aplicadas, nombre comercial o laboratorio</i>
ENGORDA				
123	Tam_gru	Numérica ordinal	1= < 20 2= 21-60 3= 61-100 4= > 100	<i>Tamaño de grupos formados en esta etapa</i>
124	Perm	Numérica	1= 4 Semanas 2= 6 Semanas 3= 8 Semanas 4= 10 Semanas	<i>Permanencia en semanas de los cerdos en esta etapa</i>
125	Cerd_edi	Numérica ordinal	1= < 100 2= 101-200 3= 201-400 4= >400	<i>Número de cerdos por edificio o por nave</i>
126	TD_TF	Dicotómica	0= Si 1= No	<i>Aplicación del sistema TD/TF</i>
127	Mez_ani	Dicotómica	0= No 1= Si	<i>Mezcla de animales</i>
128	Diarrea	Dicotómica	0= No 1= Si	<i>Se registran casos de diarrea</i>
129	Diarre_e	Numérica	1= 14 Semanas 2= 16 Semanas 3= 18 Semanas 4= 20 Semanas	<i>Semanas de edad a las que se presentan diarreas</i>
130	Tipo_d	Texto	Texto	<i>Tipo de diarrea (hemorrágica, mucoide, etc.)</i>
131	Anim_afe	Texto	Texto	<i>Número de animales</i>

				<i>afectados</i>
132	Ant_uti	Texto	Texto	<i>Antibiótico utilizado como tratamiento para la diarrea</i>
133	Dosis	Texto	Texto	<i>Dosis utilizada de antibiótico</i>
134	Dura_tra	Texto	Texto	<i>Duración del tratamiento</i>
135	Neumo	Dicotómica	0= No 1 = Si	<i>Existe la presencia de neumonías</i>
136	Neumo_e	Numérica	1= 14 Semanas 2= 16 Semanas 3= 18 Semanas 4= 20 Semanas	<i>Semanas de edad a las cuales se presentan neumonía</i>
137	Tipo_n	Texto	Texto	<i>Tipo de neumonía</i>
138	Anim_afe	Texto	Texto	<i>Número de animales afectados</i>
139	Ant_uti	Texto	Texto	<i>Antibiótico utilizado como tratamiento para neumonía</i>
140	Dosis	Texto	Texto	<i>Dosis utilizada de antibiótico</i>
141	Dura_tra	Texto	Texto	<i>Duración del tratamiento</i>
142	Cerd_re	Numérica ordinal	1= No 2= < 1.0 % 3= 1.0–5.0 % 4= 5.0–10.0 % 5= 11.0-15.0 % 6= >15.0 %	<i>Porcentaje de cerdos retrasados.</i>
143	Mortali	Numérica ordinal	1= < 1.0 % 2= 1.0-5.0 % 3= 5.0–10.0 % 4= 10.0–15.0 % 5= 15.0–20.0 %	<i>Porcentaje de mortalidad en esta etapa.</i>
144	Tipo_c	Numérica nominal	1= Cemento paredes sólidas 2= Cemento metal 3= Metal comunicados 4= Charcas	<i>Material con el que están hechas las instalaciones de esta etapa.</i>
145	Tipo_p	Numérica nominal	1= Rejilla parcial 2= Rejilla total 3= Todo cemento 4= Cemento con paja	<i>Tipo y material con que esta elaborado el piso</i>
146	Tipo_b	Numérica	1= Chupón	<i>Tipo de bebedero</i>

		nominal	2= Taza 3= Comunal	
147	Num_beb	Numérica	1= 1X5 2= 1X10 3= 1X15 4= 1X20	<i>Número de bebederos por cerdo</i>
148	Com_c	Numérica nominal	1= Tolva 1 X 1 2= Tolva 1 X 5 3= Tolva 1 X 10 4= Tolva 1 X 15 5= Tipo holandés	<i>Número de comederos (bocas por cerdo)</i>
149	Pres_a	Numérica nominal	1= Pellet 2= Harina 3= Semisólido 4= Líquido	<i>Tipo de presentación del alimento</i>
150	Tip_ali	Numérica nominal	1= Alimento comercial 2= Alimento preparado den granja 3= Se compran bases y se mezcla en granja. 4= Otro, cuál_____	<i>Tipo de alimento proporcionado</i>
151	Ene_pro	Numérica nominal	1= Sorgo/ soya 2= Trigo/soya 3= Maíz/soya	<i>Fuente de Energía: Proteína</i>
152	Prom_c	Dicotómica	0= Si 1= No	<i>Utilización de promotor de crecimiento</i>
153	Tipo_pr	Numérica nominal	1= Tiamulina 2= Tilosina 3= Tetraciclinas 4= Carbadox 5= Otro, cuál_____	<i>Nombre del tipo de promotor utilizado</i>
154	Via_ad	Numérica nominal	1= Oral 2= Inyectado	<i>Vía de aplicación del antibiótico.</i>
155	Dosis	Texto	Texto	<i>Dosis aplicada</i>
156	Cult_le	Dicotómica	0= Si 1= No	<i>Utilización de cultivos de levaduras.</i>
157	Acidi	Dicotómica	0= Si 1= No	<i>Utilización de acidificantes en la dieta</i>
158	Imnuniza	Texto	Texto	<i>Nombre de las vacunas aplicadas en esta etapa y su nombre comercial y/o laboratorio.</i>

REEMPLAZOS				
159	Fuente	Texto	Texto	<i>Nombre de la compañía que provee los reemplazos</i>
160	Tam_gru	Numérica	1= < 20 2= > 20	<i>Número de animales por grupo</i>
161	Per_a_ser	Numérica	1= < 2 2= 2-4 3= 4-6 4= 6-8 5= > 8	<i>Permanencia antes del servicio</i>
162	Diarrea	Dicotómica	0= No 1= Si	<i>Existe la presencia de diarreas</i>
163	Tipo_d	Texto	Texto	<i>Tipo de diarrea (hemorrágica, mucoide, acuosa, etc.)</i>
164	Anim_afe	Texto	Texto	<i>Número de animales afectados</i>
165	Ant_uti	Texto	Texto	<i>Antibiótico utilizado como tratamiento</i>
166	Dosis	Texto	Texto	<i>Dosis utilizada del antibiótico</i>
167	Dura_tra	Texto	Texto	<i>Duración del tratamiento en días</i>
168	Neumonías	Dicotómica	0= No 1= Si	<i>Existe la presencia de neumonías</i>
169	Tipo_n	Texto	Texto	<i>Tipo de neumonía</i>
170	Anim_afe	Texto	Texto	<i>Número de animales afectados</i>
171	Ant_uti	Texto	Texto	<i>Antibiótico utilizado como tratamiento</i>
172	Dosis	Texto	Texto	<i>Dosis utilizada</i>
173	Dura_tra	Texto	Texto	<i>Duración del tratamiento</i>
174	Mortali	Numérica ordinal	1= < 1.0% 2= 1.0-5.0% 3= 5.0-10.0 % 4= 10.0-15.0% 5= 15.0-20.0%	<i>Porcentaje de mortalidad en esta etapa</i>
175	Tipo_c	Numérica nominal	1= Cemento paredes sólida 2= Cemento metal 3= Metal comunicados 4= Charcas	<i>Tipo de corral</i>

176	Tipo_p	Numérica nominal	1= Rejilla parcial 2= Rejilla total 3= Todo cemento 4= Cemento con paja	<i>Tipo de piso</i>
177	Tipo_b	Numérica nominal	1= Chupón 2= Taza 3= Comunal	<i>Tipo de bebedero</i>
178	Immuniza	Texto	Texto	<i>Nombre de las vacunas aplicadas en esta etapa y su nombre comercial y/o laboratorio</i>
179	Man_exc	Numérica	1= 15 días 2= 30 días 3= 45 días 4= No	<i>Días a los que se manejan las excretas (exposición).</i>
BIOSEGURIDAD				
170	Ac-gran	Dicotómica	0= No 1= Si	<i>Hay acceso a la granja o es acceso restringido</i>
181	Ropa_ac	Dicotómica	0= Si 1= No	<i>Se cuenta con ropa de uso exclusivo</i>
182	Calz_ac	Dicotómica	0= No 1= Si	<i>Se cuenta con zapatos de uso exclusivo</i>
183	Barda	Dicotómica	0= No 1= Si	<i>La granja tiene barda perimetral</i>
184	Fauna_n	Dicotómica	0= No 1= Si	<i>Existe la presencia de fauna en granja y alrededores</i>
185	Tipo_f	Numérica nominal	1= Perros 2= Aves 3= Roedores 4= Otros, cuál_____	<i>Tipo de animales que pudieran estar presentes en la granja o sus alrededores.</i>
186	Contro_f	Dicotómica	0= Si 1= No	<i>Existen programas de control de fauna</i>
187	Frec	Texto	Texto	<i>Frecuencia de aplicación de los programas de control de fauna nociva.</i>

REFERENCIAS

1. - United States Department of Agriculture (USDA). Livestock and Poultry: World Markets and Trade. Circular Series October 2006 [Citado 30 Julio del 2007]. Disponible en: <http://www.fas.usda.gov/dlp/circular/2006/2006/20Annual/Livestock&Poultry.pdf>.
2. - Lobo MG, López MJ. Tipos de producción porcina en México. En: Trujillo OE, Flores CJ, editores. Producción porcina. México:UNAM, 1988:24-29.
3. - Secretaria de Agricultura Ganadería Desarrollo Rural Pesca y Alimentación. Anuario estadístico de la producción pecuaria de los estados unidos mexicanos. Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP) 2005. [Citado 30 Julio del 2007]. Disponible en: <http://www.siap.gob.mx>.
4. - Lastra MIJ, Peralta AMA, Villamar AL, Ortega MA, Segura MC, Barrera WMA, Vázquez J, Domínguez IR. Situación actual y perspectiva de la producción de carne de porcino en México 2000. [Citado 30 de Julio del 2007]. Disponible en <http://www.sagar.gob.mx>.
5. - Holland RE. Some infectious causes of diarrhea in young farm animals. Clin Microbiol Rev 1990; 3(4):345-375.
6. - Dufresne L. Alimentary tract disorders of growing pigs. Proceedings of 15th International Pig Veterinary Society Congress; 1998 July 5-9. Birmingham, England: International Pig Veterinary Society, 1998:71.
7. - Morris RS, Davies PR, Lawton DE. Evolution of diseases in the world's pig industry. Proceedings of 17th International Pig Veterinary Society Congress, 2002 June 2-6; Ames, Iowa, USA. International Pig Veterinary Society, 2002: 463-464.
8. - Jubb KVF, Kennedy PC. The intestines. In: Jubb KVF, Kennedy PC. Pathology of Domestic Animals. New York, USA: Academic Press, 1970:84-88.
9. - Liebler-Tenorio EM, Pohlenz JF, Whipp SC. Diseases of digestive system. In: Straw BE, D'Allaire S, Mengeling WL, Taylor DJ, editors. Diseases of swine, 8th ed. Ames, Iowa, USA: Iowa State University Press, 1999:821-831.
10. - Makinde MO, Umaphathy E, Akingbemi BT, Mandisodza KT, Skadhauge E. Effects of dietary soybean and cowpea on gut morphology and fecal composition in creep and noncreep-fed pigs. Zentralbl Veterinarmed A 1996; 43(2):75-85.
11. - Morin M, Turgeon D, Jolette J, Robinson Y, Phaneuf JB. Neonatal diarrhea of pigs in Quebec: Infectious causes of significant outbreaks. Can J Comp Med 1983; 47(1):11-17.

12. - Johnston WT, Dewey CE, Friendship RM, Smart N, McEwen BJ. An investigation of the etiology of mild diarrhea observed in a group of grower/finisher pigs. *Can Vet J* 2001; 42(1):33-37.
13. - Alexander TJ, Taylor DJ. The clinical signs, diagnosis and control of swine dysentery. *Vet Rec* 1969; 85(3):59-63.
14. - Jestin A, Popoff MR, Mahé S. Epizootiologic investigations of a diarrheic syndrome in fattening pigs. *Am J Vet Res* 1985; 46(10):2149-2151.
15. - Nabuurs MJA, Van Zijderveld FG, De Leeuw PW. Clinical and microbiological field studies in the Netherlands of diarrhea in pigs at weaning. *Res Vet Sci* 1993; 55(1):70-77.
16. - McOrist S, Smith SH, Green LE. Estimate of direct financial losses due to porcine proliferative enteropathy. *Vet Rec* 1997; 140(22):579-581.
17. - Pearce GP. Epidemiology of enteric diseases in grower-finisher pigs: a postal survey of pig producers in England. *Vet Rec* 1999; 144(13):338-342.
18. - Glossop CE. Pigs in society. Proceedings of 17th International Pig Veterinary Society Congress 2002 June 2-5. Ames, Iowa, USA: International Pig Veterinary Society, 2002:55-65.
19. - Hayes, D. Impact of international trade on the global swine industry. Proceedings of 17th International Pig Veterinary Society Congress 2002 June 2-5. Ames, Iowa, USA: International Pig Veterinary Society, 2002:49-53.
20. - Nielsen B. Pork Safety- a world overview. Proceedings of 17th International Pig Veterinary Society Congress, 2002 June 2-6; Ames, Iowa, USA. International Pig Veterinary Society, 2002:121-135.
21. - Hatfield JL. Minimizing the environmental impact of the pig industry. Proceedings of 17th International Pig Veterinary Society Congress 2002 June 2-5. Ames, Iowa, USA: International Pig Veterinary Society, 2002:95-103.
22. - Jacobson, M. Enteric Diseases in Pigs from Weaning to Slaughter. (Ph.D. Thesis). Uppsala, Swedish: Swedish University of Agricultural Sciences, 2003.
23. - Mejía SJW. Epidemiología de la salmonelosis porcina en granjas de Cataluña y determinación de los factores de riesgo de la infección. (Tesis doctoral). Bellaterra (Barcelona), España: Universidad de Barcelona, 2003.
24. - Straw EB, Dewey CE, Wilson MR. Differential diagnosis of swine diseases. In: Straw EB, D'Allaire S, Mengeling LW, Taylor DJ, editors. (1999). *Disease of swine* 8th ed. Ames, Iowa, USA: Iowa State Press, 1999; (3):41-86.

25. - Thomson JR. Diseases of Digestive System, In: Straw BE, Zimmerman JJ, D'Allaire S, Taylor DJ, editors. Diseases of swine, 9th ed. Ames, Iowa, USA: Blackwell publishing, 2006:37-55.
26. - Kjaersgård HD, Christensen G, Svensmark B, Bækbo P. Mortality in pigs. Proceedings of 17th International Pig Veterinary Society Congress 2002 June 2-5. Ames, Iowa, USA: International Pig Veterinary Society, 2002:227.
27. - Petersen HH, Hassing AG, Nielsen EO, Bækbo P, Nielsen JP. Prevalence of clinical signs in commercial Danish finisher herds. Proceedings of 17th International Pig Veterinary Society Congress, 2002 June 2-6; Ames, Iowa, USA. International Pig Veterinary Society, 2002:191.
28. - Corral A, Valiente N. Seroepidemiologic evaluation of *Lawsonia intracellularis* in swine farms in Spain. Proceedings of 17th International Pig Veterinary Society Congress, 2002 June 2-6; Ames, Iowa, USA. International Pig Veterinary Society, 2002:223.
29. - Machuca M, Riganti J, Puerta JD, Venturini C, Sanguinetti H. A survey of *Lawsonia intracellularis* antibodies in fattener pigs in Argentina. Proceedings of 17th International Pig Veterinary Society Congress 2002 June 2-6; Ames, Iowa, USA. International Pig Veterinary Society, 2002:194.
30. - Cizek A, Sperlig D, Bednar V, Pejsak Z, Biksi I, Martineau GP, Sevin JL, Hasman P, Mirt D. *Lawsonia intracellularis* and *Brachyspira spp.*, prevalence in fatteners in the Czech Republic, Hungary and Poland: Czech large-scale farms without diarrhea. Proceedings of 19th International Pig Veterinary Society Congress; 2006 July 16-20; Copenhagen, Denmark: International Pig Veterinary Society, 2006; 2:356.
31. - Biksi I, Molnár B, Lorincz M, Szász V, Szeifert L, Szenci O. *Lawsonia intracellularis* and *Brachyspira spp.*, prevalence in fatteners in the Czech Republic, Hungary and Poland: Large-scale Hungarian units with and without diarrhea. Proceedings of 19th International Pig Veterinary Society Congress; 2006 July 16-20; Copenhagen, Denmark: International Pig Veterinary Society, 2006; 2:354.
32. - Corona-Barrera E. Epidemiology, detection, molecular typing and control of porcine colonic spirochaetosis (*Brachyspira pilosicoli*), (Ph.D. Thesis). Edinburgh, UK: Edinburgh University, 2002.
33. - Hassing AG, Jensen TK. Diagnostic evaluation of herds with diarrhea among weaners. Proceedings of 19th International Pig Veterinary Society Congress; 2006 July 16-20; Copenhagen, Denmark: International Pig Veterinary Society, 2006; 1:154
34. - Díaz E, Angulo JR, Chevez JC, Robles F. Identificación de principales patógenos relacionados con mortalidad en distintas granjas porcinas de México. Memorias del XLI Congreso Nacional de AMVEC; 2006 agosto 16-19; Ixtapa, (Guerrero) México: Asociación Mexicana de Veterinarios Especialistas en Cerdos, A.C, 2006:248.

35. - Kohler EM. Protection of pigs against neonatal enteric colibacillosis with colostrums and milk from orally vaccinated sows. *Am J Vet Res* 1974; 35(3):331-338.
36. - Bourne FJ, Pickup J, Honour JW. Intestinal immunoglobulins in the pig. *Biochim Biophys Acta* 1971; 229(1): 18-25.
37. - Haelterman EO, Hutchings LM. Epidemic diarrheal diseases of viral origin in newborn swine. *Ann NY Acad Sci* 1956; 66(1):186-190.
38. - Bergeland ME. Pathogenesis and immunity of *Clostridium perfringens* type C enteritis in swine. *J Vet Med Assoc* 1972; 160(4):568-571.
39. - Nilsson O, Martinsson K, Persson E. Epidemiology of porcine neonatal steathorrhoea in Sweed. 1. prevalence and clinical significance of coccidal and rotaviral infections. *Nordisk Veterinär-Medicin* 1984; 36:103-110.
40. - Gaskins HR, Kelly KW. Immunology and neonatal mortality. In: Varley MA, editor. *The neonatal pig. Development and survival*. Illinois, USA:CAB International, 1995: 39-55.
41. - Moxley RA, Duhamel GE. Comparative pathology of bacterial enteric diseases of swine. *Proceedings of the intestinal Rushmore Conference on mechanisms in the pathogenesis of enteric diseases 2*, New York, USA. 1999: 83-101.
42. - Bertschinger HU, Eggenberger E, Jucker H, Pfirter HP. Evaluation of low nutrient, high fibre diets for the prevention of porcine *Escherichia coli* enterotoxaemia. *Vet Microbiol* 1978; 3(4): 281-290.
43. - Johansen M, Jörgensen L, Hansen CF. Restricted feeding for prevention of *E.coli* associated diarrhea in weaned pigs. *Proceedings of 16th International Pig Veterinary Society Congress 2000*, September 17-20, Melbourne, Australia: International Pig veterinary Society, 2000:20.
44. - Madec F, Buddle JR. A reflection on the strategies for tackling multifactorial disease problems in pigs, with specific reference to post-weaning enteric disorders. *Proceedings of 17th International Pig Veterinary Society Congress, 2002 June 2-6*; Ames, Iowa, USA. International Pig Veterinary Society, 2002:113-120.
45. - Trott DJ, Stanton TB, Jensen NS, Duhamel GE, Hampson DJ. *Serpulina pilosicoli* sp. nov., the agent of porcine intestinal spirochetosis. *Int J Syst Bacteriol* 1996; 46:206–215.
46. - Duhamel GE. Colonic spirochetosis caused by *Serpulina pilosicoli*. *Large Anim Pract* 1998; 19:14-22.
47. - Thomson J, Smith WJ, Murray BP. Investigations into field cases of porcine colitis with particular reference to infection with *B. pilosicoli*. *Vet Rec* 1998; 142(10):235-239.

48. - Meyer RC. Swine dysentery: a perspective. *Adv Vet Sci Comp Med* 1978; 22:133-158.
49. - Paster BJ, Dewhirst FE. Phylogenetic foundation of spirochetes. *J Mol Microbiol Biotechnol* 2000; 2(4):341–344.
50. - Hampson DJ, Trott DJ. Spirochetal diarrhea/Porcine intestinal spirochetosis. In: Straw BE, D'Allaire S, Mengeling W, Taylor DJ, editors. *Diseases of Swine*, 8th ed. Ames, Iowa, U.S.A: Iowa State University Press, 1999:553–562.
51. - Paster BJ, Dewhirst FE, Weisburg WG, Tordoff LA, Fraser GJ, Hespell RB, Stanton TB, Zablen L, Mandelco L, Woese CR. Phylogenetic analysis of the spirochetes. *J Bacteriol* 1991; 173(19):6101–6109.
52. - Holt JG, Krieg NR, Sneath PNA, Staley JT, Williams ST. *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*. Baltimore Maryland: Williams and Wilkins, 1994.
53. - Paster BJ, Dewhirst FE. Taxonomy and phylogeny of intestinal spirochaetes. In: Hampson DJ, Stanton TB, editors. *Intestinal spirochaetosis in domestic animals and humans*. Wallingford, England: CAB International, 1997:47-61.
54. - Canale-Parola E. The spirochetes. In: Krieg NR, Holt JG, editors. *Bergey's manual of systematic bacteriology*. Baltimore, London, UK: Williams & Wilkins, 1984:38–70.
55. - Stanton TB, Lebo DF. *Treponema hyodysenteriae* growth under various culture conditions. *Vet Microbiol* 1988; 18(2):177–190.
56. - Faine S. *Leptospira*. In: Collier L, Balows A, Sussman M, editors. *Microbiology and microbial infections*, Vol. 2, Systematic bacteriology. Arnold, London NW1 3BH, U.K, 1998:1287– 1303.
57. - Murgia R, Cinco M. Induction of cystic forms by different stress conditions in *Borrelia burgdorferi*. *APMIS* 2004; 112:57–62.
58. - Wood JE, Seviour JR, Siddique MAB, Glaisher WR, Webb IR, Trott DJ. Spherical body formation in the spirochaete *Brachyspira hyodysenteriae*. *FEMS Microbiol Lett* 2006; 259(1):14-19.
59. - Baranton G, Old IG. The Spirochaetes: a different way of life. *Bull Inst Pasteur* 1995; 93:63-95.
60. - Olsen I, Pasteur BJ, Dewhirst FE. Taxonomy of spirochetes. *Anaerobe* 2000; 6(1):39-57.
61. - Stanton TB. Physiology of ruminal and intestinal spirochaetes. In: Hampson DJ, Stanton TB. editors. *Intestinal spirochaetes in domestic animals and humans*. Wallingford England: CAB International, 1997:7–45.

62. - Sellwood R, Bland, AP. Ultrastructure of intestinal spirochaetes. In: Hampson DJ, Stanton TB, editors. Intestinal spirochaetes in domestic animals and humans. Wallingford, England: CAB International, 1997:109–149.
63. - Fossi M. Epidemiological aspects and improved differential diagnostics of porcine *Brachyspira pilosicoli*. (Ph.D. Thesis). Helsinki, Finland: University of Helsinki, 2006.
64. - Harris DL, Glock RD, Christensen CR, Kinyon JM. Swine Dysentery I – Inoculation of pigs with *Treponema hyodysenteriae* (new species) and reproduction of the disease. *Vet Med Small Anim Clin* 1972; 67(1):61–64.
65. - Jensen NS, Stanton TB, Swayne, DE. Identification of the swine pathogen *Serpulina hyodysenteriae* in rheas (*Rhea americana*). *Vet Microbiol* 1996; 52(3-4):259–269.
66. - Jansson DS, Johansson KE, Olofsson T, Råsbäck T, Vågsholm I, Pettersson B, Gunnarsson A, Fellström C. *Brachyspira hyodysenteriae* and other strongly β -haemolytic and indole-positive spirochaetes isolated from mallards (*Anas platyrhynchos*). *J Med Microbiol* 2004; 53(4):293–300.
67. - Stanton TB, Fournié-Amazouz E, Postic D, Trott DJ, Grimont PAD, Baranton G, Hampson DJ, Saint-Girons I. Recognition of two new species of intestinal spirochetes: *Serpulina intermedia* sp. nov. and *Serpulina murdochii* sp. nov. *Int J Syst Bacteriol* 1997; 47(4):1007–1012.
68. - Griffiths IB, Hunt BW, Lister SA, Lamont MH. Retarded growth rate and delayed onset of egg production associated spirochaete infection in pullets. *Vet Rec* 1987; 121(2): 35–37.
69. - McLaren AJ, Trott DJ, Swayne DE, Oxberry SL, Hampson DJ. Genetic and phenotypic characterization of intestinal spirochetes colonizing chickens and allocation of known pathogenic isolates to three distinct genetic groups. *J Clin Microbiol* 1997; 35(2):412–417.
70. - Kinyon JM, Harris DL. *Treponema innocens*, a new species of intestinal bacteria, and emended description of the type strain of *Treponema hyodysenteriae*. *Int J System Bacteriol* 1979; 29:102–109.
71. - Trott DJ, Atyeo RF, Lee JI, Swayne DA, Stoutenburg JW, Hampson DJ. Genetic relatedness amongst intestinal spirochaetes from rats and birds. *Lett Appl Microbiol* 1996; 23:431–436.
72. - Hampson DJ, Robertson ID, Oxberry SL. Isolation of *Serpulina murdochii* from the joint fluid of a lame pig. *Aust Vet J* 1999; 77(1):48.
73. - Jensen TK, Christensen AS, Boye M. Experimental colonic infection by *Brachyspira murdochii* in pigs. Proceedings of 3rd International Conference on Colonic Spirochaetal Infections in Animals and Humans 2005 June 5-7, Parma, Italy 2005: 66.

74. - Duhamel GE. Porcine Colonic Spirochetosis caused by *Serpulina pilosicoli*. In Evans A, editor. Enteric diseases, Misset pigs. Chaiwan, Hong Kong: Shiny International Ltd, 1996: 10-13.
75. - Stephens CP, Hampson DJ. Experimental infection of broiler breeder hens with the intestinal spirochaete *Brachyspira (Serpulina) pilosicoli* causes reduced egg production. Avian Pathol 2002; 31(2):169–175.
76. - Shivaprasad HL, Duhamel GE. Cecal spirochetosis by *Brachyspira pilosicoli* in comercial turkeys. Avian Dis 2005; 49(4):609–613.
77. - Trivett-Moore NL, Gilbert GL, Law CLH, Trott DJ, Hampson DJ. Isolation of *Serpulina pilosicoli* from rectal biopsy specimens showing evidence of intestinal spirochetosis. J Clin Microbiol 1998; 36(1):261–265.
78. - Jensen TK, Boye M, Ahrens P, Korsager B, Teglbjærg PS, Lindboe CF, Møller K. Diagnostic examination of human intestinal spirochetosis by fluorescent *in situ* hybridization for *Brachyspira aalborgi*, *Brachyspira pilosicoli*, and other species of the genus *Brachyspira (Serpulina)*. J Clin Microbiol 2001; 39:4111–4118.
79. - Duhamel, G.E., Trott, D.J., Muniappa, N., Mathiesen, M.R., Tarasiuk, K., Lee, J.I. and Hampson, D.J. Canine intestinal spirochetes consist of *Serpulina pilosicoli* and a newly identified group provisionally designated “*Serpulina canis*” sp. nov. J Clin Microbiol 1998; 36(8):2264-2270.
80. - Fellström C, Pettersson B, Zimmerman U, Gunnarsson A, Feinstein R. Classification of *Brachyspira spp.*, isolated from Swedish dogs. Anim Health Res Rev 2001; 2(1): 75–82.
81. - Swayne DE, Eaton KA, Stoutenburg J, Trott DJ, Hampson DJ, Jensen NS. Identification of a new intestinal spirochete with pathogenicity for chickens. Infect Immun 1995; 63(29):430–436
82. - Stanton TB, Postic D, Jensen NS. *Serpulina alvinipulli* sp. nov., a new *Serpulina* species that is enteropathogenic for chickens. Int J Syst Bacteriol 1998; 48:669–676.
83. - Hovind-Hougen K, Birch-Andersen A, Henrik-Nielsen R, Orholm M, Pedersen JO, Teglbjærg PS, Thaysen EH. Intestinal spirochetosis: Morphological characterization and cultivation of the spirochete *Brachyspira aalborgi* gen. nov., sp. nov. J Clin Microbiol 1982; 16(6):1127–1136.
84. - Duhamel GE, Elder RO, Muniappa N, Mathiesen MR, Wong VJ, Tarara RP. Colonic spirochetal infections in nonhuman primates that were associated with *Brachyspira aalborgi*, *Brachyspira pilosicoli*, and unclassified flagellated bacteria. Clin Infect Dis 1997; 25(2):186–188.

85. - Munshi MA, Taylor NM, Mikosza ASJ, Spencer PBS, Hampson DJ. Detection by PCR and isolation assays of the anaerobic intestinal spirochete *Brachyspira aalborgi* from the feces of captive non-human primates. *J Clin Microbiol* 2003; 41:1187–1191.
86. - Johansson KE, Duhamel GE, Bergsjö B, Engvall EO, Persson M, Pettersson B, Fellström C. Identification of three clusters of canine intestinal spirochaetes by biochemical and 16S rDNA sequence analysis. *J Med Microbiol* 2004; 53:345–350.
87. - Phillips ND, La T, Hampson DJ. A cross-sectional study to investigate the occurrence and distribution of intestinal spirochaetes (*Brachyspira* spp.) in three flocks of laying hens. *Vet Microbiol* 2005; 105(3-4):189–198.
88. - Råsbäk T, Jansson D, Johansson KE, Fellström, C. A novel enteropathogenic, strongly haemolytic spirochaete isolated from pig and mallard, provisionally designated “*Brachyspira suanatina*” sp. nov. *Environ Microbiol* 2007; 9(4):983-991.
89. - Murray BP, Henderson LE, Meikle CS, Tennant BJ, Thomson JR. Isolation of canine and feline intestinal spirochaetes from routine clinical specimens. In: Proceedings 2nd International Conference on Colonic Spirochaetal Infections in Animals and Humans 2003 2–4 April, Edinburgh, Scotland, 2003: Abstract 32.
90. - Turek JJ, Meyer RC. An intestinal spirochete infestation in the opossum. *Current Microbiol* 1979; 3:27–31.
91. - Vanrobaeys M, De Herdt P, Ducatelle R, Devriese LA, Charlier G, Haesebrouck F. Typhlitis caused by intestinal *Serpulina*-like bacteria in domestic guinea pigs (*Cavia porcellus*). *J Clin Microbiol* 1998; 36(3):690–694.
92. - Molnár L. Comparative study of *Treponema* strains isolated from swine and nutria. *Acta Vet Hungar* 1986; 34:129–135.
93. - Davies ME, Bingham RW. Spirochaetes in the equine caecum. *Res Vet Sci* 1985; 39(1):95–98.
94. - Shibahara T, Kuwano A, Ueno T, Anzai T, Kuwamoto Y, Sato H, Maeda T, Ishikawa Y, Kadota K. Intestinal spirochetosis in a 21-month-old thoroughbred colt. *J Vet Med Sci* 2002; 64(7):633–636.
95. - Hamir AN, Trott D, Palmer M, Stasko J. Naturally occurring spirochetes in the colonic 48 mucosa of raccoons (*Procyon lotor*). *Vet Pathol* 2001; 38:233–236.
96. - Shibahara T, Hikita M, Wada Y, Sueyoshi M, Ohya T, Ishikawa Y, Kadota K. Intestinal spirochetosis in wild sika deer (*Cervus nippon yesoensis*) infected with *Brachyspira* species. *J Vet Med Sci* 2000; 62(9):947–951.

97. - Jansson D, Bröjer C, Gavier-Widén D, Gunnarsson A, Fellström C. *Brachyspira* spp. (*Serpulina* spp.) in birds: a review and results from a study of Swedish game birds. *Anim Health Res Rev* 2001; 2(1):93–100.
98. - Jansson DS, Johansson K-E, Zimmermann U, Gunnarsson A, Fellström C. Intestinal spirochetes isolated from Jackdaws, Hooded crows and Rooks (Genus *Corvus*). Proceedings of 3rd International Conference of Colonic Spirochaetal Infections in Animals and Humans 2005 June 5-7, Parma, Italy, 2005:32–33.
99. - Råsbäck T, Jansson DS, Johansson K-E, Fellström, C. New isolates of strongly haemolytic porcine spirochaetes dissimilar to *Brachyspira hyodysenteriae*. In: Proceedings of 3rd International Conference on Colonic Spirochaetal Infections in Animals and Humans 2005 June 5-7. Parma, Italy, 2005:69–70.
100. - Stanton TB, Jensen NS, Casey TA, Tordoff LA, Dewhirst FE, Paster BJ. Reclassification of *Treponema hyodysenteriae* and *Treponema innocens* in a new genus, *Serpula* gen. nov., as *Serpula hyodysenteriae* comb. nov. and *Serpula innocens* comb. nov. *Int J Syst Bacteriol* 1991;41(1):50-58.
101. - Stanton TB. Proposal to change the genus *Serpula* to *Serpulina* gen. nov. containing the species *Serpulina hyodysenteriae* comb. nov. and *Serpulina innocens* comb. nov. *Int J Syst Bacteriol* 1992; 42(1):189-190.
102. - Ochiai S, Adachi Y, Mori K. Unification of the genera *Serpulina* and *Brachyspira* and proposals of *Brachyspira hyodysenteriae* comb. nov., *Brachyspira innocens* comb. nov. and *Brachyspira pilosicoli* comb. nov. *Microbiol Immunol* 1997; 41(6):445-452.
103. - Hampson DJ, Fellström C, Thomson JR. Swine dysentery In: Straw BE, D’Allaire SD, Zimmerman JJ, Taylor DJ, editors. *Disease of swine*, 9th ed. Ames, Iowa, USA: Blackwell publishing, 2006:785-805.
104. - Hampson DJ, Stanton TB. *Intestinal spirochaetes in domestic animals and humans*. Wallingford, England: CAB International, 1997.
105. - Neef NA, Lysons RJ, Trott DJ, Hampson DJ, Jones PW, Morgan JH. Pathogenicity of porcine intestinal spirochetes in gnotobiotic pigs. *Infect Immun* 1994; 62(6):2395–2403.
106. - Homme J, Castryck F, Hasebrouck F, Devrise LA. Identification of porcine *Serpulina* strains in routine diagnostic bacteriology. *Vet Microbiol*, 1998; 62(2):163-169.
107. - Fellström C, Karlsson M, Pettersson B, Zimmerman U, Gunnarsson A, Aspan A. Emended descriptions of indole negative and indole positive isolates of *Brachyspira (Serpulina) hyodysenteriae*. *Vet Microbiol* 1999; 70(3-4):225–238.
108. - Lee JI, Hampson DJ, Lymbery AJ, Harders SJ. The porcine intestinal spirochaetes: identification of new genetic groups. *Vet Microbiol* 1993; 34(3):273-285.

109. - Trott DJ, McLaren AJ, Hampson DJ. Pathogenicity of human and porcine intestinal spirochetes in one-day-old specific-pathogen-free chicks: an animal model of intestinal spirochetosis. *Infect Immun* 1995; 63(9):3705-3710.
110. - Lee JI, McLaren AJ, Lymbery AJ, Hampson, DJ. Human intestinal spirochetes are distinct from *Serpulina hyodysenteriae*. *J Clin Microbiol* 1993; 31(1):16-21.
111. - Stanton TB, Trott DJ, Lee AJ, McLaren DJ, Hampson DJ, Paster BJ, Jensen NS. Differentiation of intestinal spirochaetes by multilocus enzyme electrophoresis analysis and 16 rRNA sequence comparisons. *FEMS Microbiol Lett* 1996; 136(2):181-186.
112. - Jones MJ, Miller JM, George WL. Microbiological and biochemical characterization of spirochetes isolated from the feces of homosexual males. *J Clin Microbiol* 1986; 24:1071-1074.
113. - Trott DJ, Stanton TB, Jensen NS, Hampson DJ. Phenotypic characteristics of *Serpulina pilosicoli* the agent of intestinal spirochaetosis. *FEMS-Microbiol Lettters* 1996; 142(2-3):209-214.
114. - Lee JI. Characterization of intestinal spirochaetes from pigs, dogs and man. (Ph. D. Thesis). Perth, Australia: Murdoch University, 1994.
115. - Fellström C, Gunnarson A. Phenotypical characterization of intestinal spirochetes isolated from pigs. *Res Vet Sci* 1995; 59(1):1-4.
116. - Sanna A, Dettori G, Angliano AM, Branca G, Grillo R, Leone F, Rossi A, Parisi G. Studies of treponemes isolated from human gastrointestinal tract. *L' Igiene Moderna*; 1984; 81:956-973.
117. - Tompkins DS, Foulkes SJ, Godwin PGR, West AP. Isolation and characterization of intestinal spirochaetes. *J Clin Pathol* 1986; 39(5):535-541.
118. - Lee JL, Hampson DJ. Intestinal spirochaetes colonizing Aborigines from communities in the remote north of Western Australia. *Epidemiol Infect* 1992; 109(1):133-141.
119. - Hampson DJ, La T. Reclassification of *Serpulina intermedia* and *Serpulina murdochii* in the genus *Brachyspira* as *Brachyspira intermedia* comb. nov and *Brachyspira murdochii* comb. nov. *Int J Syst Envi Microbiol* 2006; 56: 1009-1012.
120. - Hampson DJ, Trott DJ. A review-Intestinal spirochaetal infections of pigs: an overview with an Australian perspective. In: Hannessy DP, Cranwell PD, editors. *Manipulating Pig Production V*. Werribee, Victoria, Australia: Australian Pig Science Association, 1995:139-169.
121. - McLaren AJ, Hampson DJ, Wylie SL. The prevalence of intestinal spirochaetes in poultry flocks in Western Australian. *Aus Vet J* 1996; 74(4):319-321.

122. - Lee JL, Hampson DJ. Genetic characterisation of intestinal spirochaetes and their association with disease. *J Med Microbiol* 1994; 40(5):365-371.
123. - Trott DJ, Hampson DJ. Evaluation of day-old specific pathogen-free chicks as an experimental model for pathogenicity testing of intestinal spirochaete species. *J Comp Pathol* 1998; 118(4):365-381.
124. - Hampson DJ, McLaren AJ. Prevalence, genetic relationships and pathogenicity of intestinal spirochaetes infecting Australian poultry. *Proceedings of Australian Poultry Science Symposium 1997*. Sydney, Australia. 1997:108-112.
125. - Swayne DE, Bermudez AJ, Sagartz JE, Eaton KA, Monfort JD, Stoutenburg JW, Hayes JR. Association of cecal spirochetes with pasty vents and dirty eggshells in layer. *Avian Dis* 1992 36(3):776-781.
126. - Oxberry SL, Hampson DJ. Colonization of pet shop puppies with *Brachyspira pilosicoli*. *Vet Microbiol* 2003; 93:167-174.
127. - Clarke RC, Gyles CL. *Salmonella*. In: Clarke RC, Gyles CL, editors. *Pathogenesis of Bacterial Infections in Animals*. Ames, Iowa, USA: Iowa State University Press, 1987:133-153.
128. - Cano L, Montes de Oca R, Mendoza S, Ciprián A, Olea R. CD2+, CD4+ and CD8+ lymphocytes levels in piglets during pre and post weaning. *Proceedings of 16th International Pig Veterinary Society Congress, 2000 Melbourne, Australia: International Pig Veterinary Society, 2000:172.*
129. - McFall-Ngai M. The development of cooperative associations between animals and bacteria: Establishing détente among domains. *American Zoologist* 1998; 38(4):593-608.
130. - Gibbons RA, Sellwood R, Burrows M, Hunter PA. Inheritance of resistance to neonatal *E. coli* diarrhoea in the pig: Examination of the genetic system. *Theor Appl Genet* 1977; 51(2):65-70
131. - Guerrant RL, Brunton LL, Schnaitman TC, Rebhun LI, Gilman AG. Cyclic adenosine monophosphate and alteration of chinese hamster ovary cell morphology: a rapid, sensitive in vitro assay for the enterotoxins of *Vibrio cholerae* and *Escherichia coli*. *Infect Immun* 1974; 10(2):320-27.
132. - Field M, Rao MC, Chang EB. Intestinal electrolyte transport and diarrheal disease II. *N Engl J Med* 1989; 321(12):879-83.
133. - Gyles CL. Virulence factors of *Escherichia coli*. In: Gyles CL editor. *Escherichia coli in Domestic Animals and Humans*. Wallingford, UK: CAB International, 1994:337-364.
134. - Arbuckle JBR. The attachment of *Clostridium welchii* (*Cl. perfringens*) type C to intestinal villi of pigs. *J Pathol* 1972; 106(2):65-72.

135. - Lindsay DS, Stuart BP, Wheat BE, Ernst JV. Endogenous development of the swine coccidium, *Isoospora suis* Biester 1934. J. Parasitol 1980; 66(5):771-79.
136. - Graham DY, Sackman JW, Estes MK. Pathogenesis of rotavirus induced-diarrhea. Preliminary studies in miniature swine piglet. Dig Dis Sci 1984; 29(11):1028-1035.
137. - Lindsay DS, Current WL, Ernst JV. Sporogony of *Isoospora suis* Biester, 1934 of swine. J Parasitol 1982; 68:861-865.
138. - Lindsay DS, Blagburn BL, Dubey JP. Coccidia and other protozoa. In: Straw BE, D'Allaire S, Mengeling WL, Taylor DJ. Editors. Diseases of Swine, 8th. Ames, Iowa, USA: Iowa State University Press, 1999: 655-67.
139. - Taylor DJ. Salmonellosis. In: Taylor DJ, editor. Pig diseases. 8th ed. Bury St. Edmund's, Suffolk, UK: St. Edmundsbury Press, 2006:150-155.
140. - McOrist S, Jasni S, Mackie RA, Berschneider HM, Rowland AC, Lawson GHK. Entry of the bacterium *Ileal symbiont intracellularis* into cultured enterocytes and its subsequent release. Res Vet Sci 1995; 59(3):255-260.
141. - Lawson GHK, Mackie RA, Smith DGE, McOrist S. Infection of cultured rat enterocytes by *Ileal symbiont intracellularis* depends on host cell function and actin polymerisation. Vet Microbiol 1995; 45(4):339-350.
142. - Jensen TK, Lindecrona R, Pedersen AR, Möller K. Observations on intestinal epithelial cell kinetics in pigs infected by *Lawsonia intracellularis*, *Brachyspira pilosicoli* and *Brachyspira hyodysenteriae*. Proceedings of 16th International Pig Veterinary Society Congress, 2000 September 17-20, Melbourne, Australia: International Pig veterinary Society, 2000:65.
143. - Lawson GHK, Gebhart CJ. Proliferative enteropathy. J Comp Pathol 2000; 122: 77-100.
144. - McOrist S, Jasni S, Mackie RA, MacIntyre N, Neef N, Lawson GHK. (1993). Reproduction of porcine proliferative enteropathy with pure cultures of *Ileal symbiont intracellularis*. Infect Immun 1993; 61(10):4286-4292.
145. - McOrist S, Mackie RA, Neef N, Aitken I, Lawson GHK. Synergism of *Ileal symbiont intracellularis* and gut bacteria in the reproduction of porcine proliferative. Vet Rec 1994; 134(13):331-332
146. - Trott DJ, Combs BG, Mikosza ASJ, Alpers M, Hampson DJ. Prevalence and epidemiological analysis of *Serpulina pilosicoli* in villagers and their animals living in the eastern Highlands of Papua New Guinea. Aust Microbiol 1996; 17:A86.

147. - Trott DJ, Huxtable CR, Hampson DJ. Experimental infection of newly weaned pigs with human and porcine strains of *Serpulina pilosicoli*. *Infect Immunol* 1996; 64(11):4648-4654.
148. - Taylor DJ. Swine dysentery. In: Taylor DJ, editor. *Pig diseases*. 8th ed. Bury St. Edmund's, Suffolk, UK: St. Edmundsbury Press, 2006:156-164.
149. - Hughes R, Olander HJ, Williams CB. Swine dysentery: Pathogenicity of *Treponema hyodysenteriae*. *Am J Vet Res* 1975; 36(7):971-77.
150. - Durmic Z, Pethick DW, Pluske JR, Hampson DJ. Changes in bacterial populations in the colon of pigs fed different sources of dietary fibre, and the development of swine dysentery after experimental infection. *J App Microbiol* 1998; 85(3):574-82.
151. - Taylor DJ, Alexander TJJ. The production of dysentery in swine by feeding cultures containing a spirochaete. *Br Vet J* 1971; 127(11):58-61.
152. - Harris DL, Kinyon JM, Mullin MT, Glock RD. Isolation and propagation of spirochetes from the colon of swine dysentery affected pigs. *Can J Comp Med* 1972; 36(1): 74-76.
153. - Harris DL, Hampson DJ, Glock RD. Swine dysentery. In: Straw BE, D'Allaire SD, Mengeling WD, Taylor DJ, editors. *Disease of swine*, 8th ed. Ames Iowa USA: Iowa State University press, 1999:579-600.
154. - Kinyon JM, Harris DL. Growth of *Treponema hyodysenteriae* in liquid medium. *Vet Rec* 1974; 95(10):219-220.
155. - Lemcke RM, Burrows RM. Sterol requirement for the growth of *Treponema hyodysenteriae*. *J Gen Microbiol* 1980; 116(2):539-543.
156. - Kunkle RA, Harris DL, Kinyon JM. Autoclaved liquid medium for propagation of *Treponema hyodysenteriae*. *J Clin Microbiol* 1986; 24(4):669-671.
157. - Kent KA, Lemcke RM, Lysons RJ. Production, purification and molecular weight determination of the haemolysin of *Treponema hyodysenteriae*. *J Med Microbiol* 1988; 27(3):215-224.
158. - Kinyon JM. Characterization of *Treponema hyodysenteriae* isolated from outbreaks of swine dysentery (MSc Thesis). USA: Iowa State University, 1974.
159. - Lemcke RM, Burrows MR. A comparative study of spirochaetes from the porcine alimentary tract. *J Hyg* 1981; 86(2):173-182.
160. - Jacobson M, Fellström C, Lindberg R, Wallgren P, Jensen-Waern M. Experimental swine dysentery: comparison between infection models. *J Med Microbiol* 2004; 53:273-280.

161. - Pluske JR, Siba P, Pethick DW, Durmic Z, Mullan BP, Hampson DJ. The incidence of swine dysentery in pigs can be reduced by feeding diets that limit the amount of fermentable substrate entering the large intestine. *J Nutr* 1996; 126:2920-2933.
162. - Siba PM, Pethick DW, Hampson DJ. Pigs experimental infected with *Serpulina hyodysenteriae* can be protected from developing swine dysentery by feeding them a highly digestible diet. *Epidemiol Infect* 1996; 116(2):207-216.
163. - Lysons RJ, Lemcke RM, Bew J, Burrows MR, Alexander TJJ. An avirulent strain of *Treponema hyodysenteriae* isolated from herds free of swine dysentery. In Proceedings of 7th International Pig Veterinary Society Congress 1982. Mexico City: International Pig Veterinary Society, 1982:40.
164. - Milner JA, Sellwood R. Chemotactic response to mucin by *Serpulina hyodysenteriae* and other porcine spirochetes: Potential role in intestinal colonization. *Infect Immun* 1994; 62(9):4095-4099.
165. - Maphoter ME. An estimate of the prevalence of swine dysentery in US. Swine herds during 1989-1991. Survey, national Animal Health Monitoring System, National Veterinary Services Laboratory, 1993. US. Dept. Agric. Washington, D.C.
166. - Egan IT, Harris DL, Hill HT. (1982). Prevalence of swine dysentery, transmissible gastroenteritis and pseudorabies in Iowa, Illionis and Missouri swine. Proceedings of U.S. Animal Health Association, 1982: U.S. Animal Health Association; 86:497-502.
167. - Thomson JR, Smith WJ, Murray D, Dick JE, Sumption KJ. Porcine enteric spirochete infection in the UK: Surveillance data and preliminary investigation of atypical isolates. *Anim Health Res Rev* 2001; 2(1):31-36.
168. - Plawinska J, Jakubowski T, Rzewuska M, Binek M. (2004). Occurrence of *Lawsonia intracellularis* and *Brachyspira* spp in swine suffering from diarrhea. Proceedings of 18th International Pig Veterinary Society Congress 2004 June 27- 1 July. Hamburg, Germany: International Pig Veterinary Society, 2004:287.
169. - Prapasarakul N, Niyomthom W, Tripipat T, Tummarak P, Suckchai S, Thanawongnuwech R. In vitro activity of antimicrobial agents against *B. hyodysenteriae* from pigs with recurrent dysentery in Thailand. Proceedings of 18th International Pig Veterinary Society Congress 2004 June 27- 1 July. Hamburg, Germany: International Pig Veterinary Society, 2004:553.
170. - Lysons RJ. European perspectives on control of swine dysentery. In Proceedings of Association Swine Practitioner 1983. Cincinnati, Ohio. USA, 1983.
171. - Wood EN, Lysons RJ. The financial benefit from the eradication of swine dysentery. *Vet Rec* 1988; 121:277-279.

172. - Walter DH, Kinyon JM. Recent MIC determination of six antimicrobials from *Treponema hyodysenteriae* in the United states; use tiamulin to eliminate swine dysentery from two farrow to finish herds. Proceeding of 11th International Pig Veterinary Society Congress 1990 July 1–5, Lausanne, Switzerland, International Pig Veterinary Society, 1990:129.
173. - Duhamel GE, Joens LA. Laboratory procedures for diagnosis of swine dysentery. Proceedings American Association Veterinary Laboratory Diagnosticians, 1994. Columbia, Missouri. American Association of Veterinary Laboratory Diagnostician, INC, 1994:1-17.
174. - Mhoma JRL, Hampson DJ, Robertson ID. (1992). A serological survey to determine the prevalence of *Treponema hyodysenteriae* in Western Australia. Aus Vet J 1992; 69(4):81-84.
175. - Taylor DJ. Swine dysentery survey. Vet Rec 1984; 115(5):110-111.
176. - Roncalli RA, Leaning WHD. Geographical distribution of swine dysentery. Proceeding International Pig Veterinary Society Congress, 1976; Ames, Iowa, USA. International Pig Veterinary Society, 1976:17.
177. - Olson LD. Clinical and pathological observations on the experimental passage of swine dysentery. Can J Comp Med 1974; 38(1):7-13.
178. - Songer JG, Harris DL. Transmission of swine dysentery by carrier pigs. Am J Vet Res 1978; 39(6):913-916.
179. - Joens LA, Kinyon JM. Isolation of *Treponema hyodysenteriae* from wild rodents. J Clin Microbiol 1982; 15(6):994-997.
180. - Fellström C, Landen A, Karlsson M, Gunnarson A, Holmgren N. Mice as a reservoir of *Brachyspira hyodysenteriae* in repeated outbreaks of swine dysentery in a Swedish fattening herd. Proceedings of 18th International Pig Veterinary Society Congress 2004 June 27- 1 July. Hamburg, Germany: International Pig Veterinary Society, 2004:280.
181. - Hampson DJ, Combs BG, Harder SJ, Connaughton ID, Fahy VA. Isolation of *Treponema hyodysenteriae* from a wild rat living on a piggery. Aust Vet J 1991; 68(9): 308.
182. - Glock RD, Kinyon JM, Harris DL. Transmission of *Treponema hyodysenteriae* by canine and avian vectors. Proceedings of 5th International Pig Veterinary Society Congress 1978. Zagreb: International Pig Veterinary Society, 1978:63.
183. - Joens LA. Experimental transmission of *Treponema hyodysenteriae* from mice to pigs. Am J Vet Res 1980; 41(8):1225-1226.
184. - Chia SP. Studies of the survival of *Treponema hyodysenteriae* and the epidemiology of swine dysentery. (MVM Thesis). Glosgow, Scotland: Glasgow University, 1977.

185. - Chia SP, Taylor DJ. Factors affecting the survival of *Treponema hyodysenteriae* in dysenteric pig feces. *Vet Rec* 1978; 103(4):68-70.
186. - Harris DL, McKean JD, Joens LA, Glock RD, Schultz R. Swine dysentery-practitioner planning guide for herd elimination programs. *Livest. Conserv. Int.* Madison, Wis 1990.
187. - Robertson ID, Mhoma JRL, Hampson DJ. Risk factors associated with the occurrence of swine dysentery in Western Australia: results of a postal survey. *Aust Vet J* 1992; 69(4):92-93.
188. - Glock RD, Harris DL, Kluge JP. Localization of spirochetes with the structural characteristics of *Treponema hyodysenteriae* in the lesions of swine dysentery. *Infect Immunity* 1974; 9(1):167-178.
189. - Rosey EL, Kennedy MJ, Petrella, DK, Ulrich RG, Yancey RJ. Inactivation of *Serpulina hyodysenteriae* *flaA1* and *flaB1* periplasmic flagellar genes by electroporation-mediated allelic exchange. *J Bacteriol* 1995; 177(20):5959-5970.
190. - Kennedy MJ, Rosnick DK, Ulrich RG, Yancey RJ. (1988). Association of *Treponema hyodysenteriae* with porcine intestinal mucosa. *J Gen Microbiol* 1988; 134(6):1565-1567.
191. - Wilcock BD, Olander HJ. Studies on the pathogenesis of swine dysentery. II. Search for a cytotoxin in spirochetal broth cultures and colon content. *Vet Pathol* 1979; 16(5):567-573.
192. - Knoop FC, Schrank GD, Ferraro FM. In vitro attachment of *Treponema hyodysenteriae* to mammalian epithelial cells. *Can J Microbiol* 1979; 25(3):399-405.
193. - Bowden CA, Joens LA, Kelly LM. Characterization of the attachment of *Treponema hyodysenteriae* to Henle intestinal cells in vitro. *Am J Vet Res* 1989; 50(9):1481-1485.
194. - Stanton TB, Jensen NS. Purification and characterization of *NADH* oxidase from *Serpulina (Treponema) hyodysenteriae*. *J Bacteriol* 1993; 175:2980-2987.
195. - Kennedy MJ, Rosey EL, Frank RK, Jensen NS, Stanton TB. Generation, characterization and virulence testing of *NADH* oxidase defective mutants of *Serpulina hyodysenteriae*. American Society for Microbiology. New Orleans, USA. 1996: Abstract B105.
196. - Hyatt DR, Ter Huurne AAHM, Van Der Zeist BAM and Joens LA. Reduced virulence of *Serpulina hyodysenteriae* hemolysin-negative mutants in pigs and their potential to protect pigs against challenge with a virulent strain. *Infect Immun* 1994; 62(6):2244-2248.

197. - Lysons RJ, Kent KA, Blamad AP, Sellwood R, Robinson WP, Frost AJ. A cytotoxic haemolysin from *Treponema hyodysenteriae*: A probable virulence determinant in swine dysentery. *J Med Microbiol* 1991; 34(2):97-102.
198. - Muir A, Koopman M, Libby S, Joens L, Heffron F, Kusters J. Cloning and expression of a *Serpulina (Treponema) hyodysenteriae* hemolysin gene. *Infect Immun* 1992; 60:529-535.
199. - Nuessen ME, Joens LA, Glock RD. Involvement of lipopolysaccharide in the pathogenicity of *Treponema hyodysenteriae*. *J. Immunol* 1983; 131(2): 997-999.
200. - Greer JM, Wannemuehler MJ. Pathogenesis of *Treponema hyodysenteriae*: induction of interleukin 1 and tumor necrosis factor by a *Treponema* butanol/water extract (endotoxin). *Microb Pathog* 1989; 7(4):279-288.
201. - Stanton TB, Cornell CP. Erythrocytes as a source of essential lipids for *Treponema hyodysenteriae*. *Infect Immun*, 1987; 55(2):304-308.
202. - Rosey EL, Kennedy MJ, Yancey RJ. Dual *flaA1 flaB1* mutant of *Serpulina hyodysenteriae* expressing periplasmic flagella is severely attenuated in a murine model of swine dysentery. *Infect Immun* 1996; 64(10):4154-4162.
203. - Joens LA, Nuessen ME. Bactericidal effect of normal swine sera on *Treponema hyodysenteriae*. *Infect. Immun* 1986; 51(1):282-285.
204. - Joens LA. Virulence factors associated with *Serpulina hyodysenteriae*. In: Hampson DJ, Stanton TB, editors. *Intestinal spirochaetes in domestic animal and humans*. Wallingford, England: CAB International 1997:151-172.
205. - Taylor DJ, Simmons JR, Laird HM. Production of diarrhoea and dysentery in pigs by feeding pure cultures of a spirochaete differing from *Treponema hyodysenteriae*. *Vet Rec* 1980; 106(15):326-332
206. - Girard C, Lemarchand T, Higgins R. Porcine colonic spirochetosis: a retrospective study of eleven cases. *Can Vet J* 1995; 36(5): 291-294.
207. - Zhang P, Cheg X, Duhamel GE. Cloning and DNA sequence analysis of an immunogenic glucose-galactose MglB lipoprotein homologue from *Brachyspira pilosicoli*, the agent of colonic spirochetosis. *Infect Immun* 2000; 68(8):4559-4565.
208. - Li Z, Fiory B, Jacques M. Growth of *Serpulina (Treponema) hyodysenteriae* under Iron-restricted Conditions. *Can J Vet Res* 1995; 59(2):149- 153.
209. - Walker CA, Murray BP, Thomson JR, Sumption K. Studies on putative virulence genes of porcine *Brachyspira* species. *Pig J* 2003; 51:184-197.

210. - Kinyon JM, Harris DL, Glock RD. Isolation of *Treponema hyodysenteriae* from experimentally infected pigs at various intervals post-inoculation. In: Proceedings of 6th International Pig Veterinary Society Congress 1980 June 30- July 3. Copenhagen, Denmark: International Pig Veterinary Society, 1980:185.
211. - Argenzio RA, Whipp SC, Glock RD. Pathophysiology of swine dysentery: Colonic transport and permeability studies. *J Infect Dis* 1980; 142(5):676-684.
212. - Schmall MS, Argenzio RA, Whipp SC. Pathophysiologic features of swine dysentery: Cyclic nucleotide-independent production of diarrhea. *Am J Vet Res* 1983; 44(7):1309-1316.
213. - Lobová D, Smola J, Cizek A. Decreased susceptibility to tiamulin and valnemulin among Czech isolates of *Brachyspira hyodysenteriae*. *J Med Microbiol* 2004; 53:287-291.
214. - Rohde J, Kessler M, Baums CG, Amtsberg G. Comparison of methods for antimicrobial susceptibility testing and MIC values for pleuromutilin drugs for *Brachyspira hyodysenteriae* isolated in Germany. *Vet Microbiol* 2004; 102(1-2):25-32.
215. - Smith SC, Muir T, Holmes M, Coloe PJ. In vitro antimicrobial susceptibility of Australian isolates of *Treponema hyodysenteriae*. *Aust Vet J* 1991; 68(12):408-409.
216. - Binek M, Wojcik U, Szyncikwicz Z, Jakubowski T. Dynamics of susceptibility of *Serpulina hyodysenteriae* to different chemotherapeutics in vitro. Proceedings 13th International Pig Veterinary Society Congress; 1994 June 26-30; Bangkok, Thailand. International Pig Veterinary Society, 1994: 203.
217. - Hommez J, Devriese LA, Castryck F, Miry C, Lein A, Haesebrouck F. Susceptibility of different *Serpulina* species in pigs to antimicrobial agents. *Vlaams Diergen Tijds* 1998; 67:32-35.
218. - Karlsson M, Oxberry SL, Hampson DJ. Antimicrobial susceptibility testing of Australian isolates of *Brachyspira hyodysenteriae* using a new broth dilution method. *Vet. Microbiol* 2002; 84(1-2):123-133.
219. - Karlsson M, Fellström C, Gunnarsson A, Landen A, Franklin A. Antimicrobial susceptibility testing of porcine *Brachyspira* (*Serpulina*) species isolates. *J Clin Microbiol* 2003; 41(6):2596-2604.
220. - Karlsson M, Fellström C, Heldtander MU, Johanson KE, Franklin A. Genetic basis of macrolide and lincosamide resistance in *Brachyspira* (*Serpulina*) *hyodysenteriae*. *FEMS Microbiol Lett* 1999; 172(2):225-260.
221. - Taylor DJ. Spirochetal diarrhea. Proceedings of 6th International Pig Veterinary Society Congress 1980 June 30- 3 July. Copenhagen, Denmark: International Pig Veterinary Society, 1980:235.

222. - Duhamel GE, Muniappa N, Gardner I, Anderson MA, Blanchard PC, DeBey BM, Mathiesen MR, Walker RL. Porcine colonic spirochetosis: a diarrhoeal disease associated with newly recognised species of intestinal spirochaetes. *Pig J* 1995; 35:101-110.
223. - Wood EN. Fashionable and future diseases. *Pig Vet. J* 1991; 27:193-197.
224. - Chase-Topping ME, Gunn G, Strachan WD, Edwards SA, Smith WJ, Hillman K, Stefopoulou SN, Thomson JR. Epidemiology of porcine non-specific colitis on Scottish farms. *Vet J* 2007; 173(2): 353-360.
225. - Duhamel GE, Stryker CJ, Lu G, Wong VJ, Tarara RP. Colonic spirochetosis of colony-raised rhesus macaques associated with *Brachyspira* and *Helicobacter*. *Anaerobe* 2003; 9(1): 45-55.
226. - Duhamel GE, Hunsaker BD, Mathiensen MR, Moxley RA. Intestinal spirochetosis and giardiasis in a Beagle pup with diarrhea. *Vet Pathol* 1996; 33(3): 360-362.
227. - Trampel DW, Jensen NS, Hoffman LJ. Cecal spirochetosis in commercial laying hens. *Avian Dis* 1994; 38(4):895-898.
228. - Stephens CP, Hampson DJ. Intestinal spirochaete infections in chickens: A review of disease associations, epidemiology and control. *Anim Health Res Rev* 2001; 2(1):201-210.
229. - Webb DM, Duhamel GE, Mathiensen MR, Muniappa N, White A. Cecal spirochetosis associated with *Serpulina pilosicoli* in captive juvenile ring-necked pheasant. *Avian Dis* 1997; 41(4):997-1002.
230. - Hampson DJ. New developments in research on swine dysentery and spirochetal colitis. *Pig News Info* 1990; 12:223-235.
231. - Castryck A, Homme J, Miry C, Lein A. Porcine intestinal spirochetosis caused by *Serpulina pilosicoli* in Belgium. *Vlaams Diergen Tijds* 1997; 66(3):125-128.
232. - Barcellos DE, Mathiensen MR, de Uzeda M, Kader II, Duhamel GE. Prevalence of *Brachyspira* species isolated from diarrheic pigs in Brazil. *Vet Rec* 2000; 146(14): 398-403.
233. - Jacques M, Girard C, Higgins, R, Goyette G. Extensive colonization of the porcine colonic epithelium by a spirochete similar *Treponema innocens*. *J Clin Microbiol* 1989; 27(5):1139-1141.
234. - Møller K, Jensen TK, Jorsal SE, Leser TD, Carstensen B. Detection of *Lawsonia intracellularis*, *Serpulina hyodysenteriae*, weakly beta-haemolytic intestinal spirochaetes, *Salmonella enterica*, and haemolytic *Escherichia coli* from swine herds with and without diarrhoea among growing pigs. *Vet Microbiol* 1998; 62(1):69-72.

235. - Heinonen M, Fossi M, Jall J-P, Salonemi H, Tuorinen V. Detectability and prevalence of *Brachyspira* species in herds rearing health class feeder pigs in Finland. *Vet Rec* 2000; 146(12):343-347.
236. - Pronost S, Bañuti-Osako M, Dumontier S, Leguennec J, Portier G, Moalic P.Y. Apports de la PCR pour l'identification des souches de *Brachyspira* pathogènes chez le porc. *Rev Med Vet* 1999; 150:803-808.
237. - Verspolhl J, Feltrup C, Thiede S, Amtsberg G. Diagnosis of swine dysentery and spirochaetal diarrhea: Part III: results of cultural and biochemical differentiation of intestinal *Brachyspira* species, by routine culture from 1997-1999. *Dtsch Tierärztl Wschr* 2001; 108:67-69.
238. - Choi C, Han DU, Kim J, Cho WS, Cheng HK, Jung T, Yoon BS, Chae C. Prevalence of *Brachyspira pilosicoli* in Korean pigs, determined using a nested PCR. *Vet Rec* 2002; 150(7):217-218.
- 239.- De Arriba ML, Vidal AB, Carvajal A, Pozo J, Martínez A, Duhamel GE, Rubio P. First confirmation of porcine colonic spirochetosis caused by *Brachyspira pilosicoli* in Iberian pigs in Spain. *Vet Rec* 2002; 150(8):250-251.
240. - Fellström C, Petterson B, Johanson K-E, Lundeheim N, Gunnarsson A. Prevalence of *Serpulina* species in relation to diarrhea and feed medication in pig-rearing herds in Sweden. *Am J Vet Res* 1996; 57(6): 807-811.
241. - Ramanathan M, Duhamel GE, Mathiesen MR, Messier S. Identification and partial characterisation of a group of weakly β -hemolytic intestinal spirochetes of swine distinct from *Serpulina innocens* isolate B256. *Vet Microbiol* 1993; 37:53-64.
242. - Duhamel GE, Muniappa N, Mathiesen MR, Johnson JL, Toth J, Elder RO, Doster AR. Certain weakly β -hemolytic intestinal spirochetes are phenotypically and genetically related to spirochetes associated with human and porcine intestinal spirochetosis. *J Clin Microbiol* 1995; 33:2211-2215.
243. - Hampson DJ, Duhamel GE. Porcine colonic spirochetosis/intestinal spirochetosis. In: Straw BE, Zimmerman JJ, D'Allaire S, Taylor DJ, editors. *Diseases of swine*, 9th ed. Ames, Iowa, USA: Blackwell publishing, 2006:755-767.
244. - Atyeo RF, Trott DJ, Robertson ID, Buddle JR, Hampson DJ. Epidemiological analysis of *Serpulina pilosicoli* within a high-health status pig herd. *Proceedings of 14th International Pig Veterinary Society Congress*; 1996 July 7-10; Bologna, Italy: International Pig Veterinary Society, 1996: 287.
245. - Taylor DJ. Spirochaetal diarrhoea. In: Taylor DJ, editor. *Pig diseases*. 8th ed. Bury St. Edmund's, Suffolk, U.K: St. Edmundsbury Press, 2006:164-167.

246. - Atyeo RF, Oxberry SL, Hampson DJ. Pulse Field gel electrophoresis for sub-specific differentiation of *Serpulina pilosicoli* (formely “*Anguillina coli*”). FEMS Microbiol Lett 1996; 141(1): 77-81.
247. - Thomson JR, Smith WJ, Murray BP, McOrist S. Pathogenicity of three strains of *Serpulina pilosicoli* in pig with a naturally acquire intestinal flora. Infect Immun 1997; 65(9):3693-3700.
248. - Jensen TK, Boye M, Møller K. Extensive intestinal spirochaetosis in pigs challenged with *Brachyspira pilosicoli*. J Med Microbiol 2004; 53(4):309-312.
249. - Margawi KR, Robertson ID, Brooke JC, Hampson DJ. Prevalence, risk factors and molecular epidemiology of *Brachyspira pilosicoli* in humans on the island of Bali, Indonesia. J Med Microbiol 2004; 53(4):325-332.
250. - Munshi MA, Traub RJ, Robertson ID, Mikosza ASJ, Hampson DJ. Colonization and risk factors for *Brachyspira aalborgi* and *Brachyspira pilosicoli* in humans and dogs on tea estates in Assam, India. Epidemiol Infect 2004; 132:137-144.
251. - Johnston T, Duhamel GE, Mathiensen MR, Walter D, Smart N, Dewey C. Recent advances in diagnosing and controlling porcine colonic spirochetosis. Compend Food Anim Med Manag 1999; 21:S198-S207.
252. - Stege H, Jensen TK, Møller K, Bækbo P, Jorsal SE. Risk factors for intestinal pathogens in Danish finishing pig herds. Prev Vet Med 2001; 50(1-2):153-164.
253. - Spearman J, Nayar G, Sheridan M. Colitis associated with *Treponema innocens*. Can J Vet 1988; 29(9):747.
254. - Wilkison JD, Wood EN. Grower scour/non-specific colitis. Vet Rec 1987; 121(14):406.
255. - Hopwood DE, Pethick DW, Hampson DJ. Increasing the viscosity of the intestinal contents stimulates proliferation of enterotoxigenic *Escherichia coli* and *Brachyspira pilosicoli* in weaner pigs. Br Vet Nutr 2002; 88(5):523-532.
256. - Hampson DJ, Robertson ID, La T, Oxberry SL, Pethick DW. Influences of diet and vaccination on colonisation of pigs by the intestinal spirochaete *Brachyspira (Serpulina) pilosicoli*. Vet Microbiol 2000; 73(1-4):75-84.
257. - Lindecrona RH, Jensen TK, Møller K. Influence of diet on the experimental infection of pigs with *Brachyspira pilosicoli*. Vet Rec 2004; 154(9):264-267.
258. - Duhamel GE. (2001). Comparative pathology and pathogenesis of naturally acquired and experimentally induced colonic spirochetosis. Anim Health Res Vet 2001; 2(1):3-17.

259. - Andrews JJ, Hoffman LJ. A porcine colitis caused by a weakly beta-hemolytic treponeme (*Treponema innocens?*). Proceedings of the 25th American Association of Veterinary Laboratory Diagnosticians Meeting; 1982; Nashville (Tennessee) U. S. A: American Association of Veterinary Laboratory Diagnosticians, 1982; 25:395-402.
260. - Girard C, Jaques M, Higgins R. Colonic spirochetosis in pigs. Can Vet J 1989; 30(1):68
261. - Jensen NS. Detection, identification and subspecific differentiation. In: Hampson DJ, Stanton TB, editors. Intestinal spirochaetes in domestic animals and humans. Wallingford, England: CAB International 1997:323-341.
262. - Taylor DJ, Trott DJ. Porcine intestinal spirochaetosis and spirochaetal colitis. In: Hampson DJ, Stanton TB, editors. Intestinal spirochaetes in domestic animals and humans. Wallingford, England: CAB International, 1997:211-241.
263. - Songer JG, Kinyon JM, Harris DL. Selective medium for isolation of *Treponema hyodysenteriae*. J Clin Microbiol 1976; 4(1):57-60.
264. - Jenkinson SR, Wingar CR. Selective medium for the isolation of *Treponema hyodysenteriae*. Vet Rec 1981; 109(17):384-385.
265. - Kunkle RA, Kinyon JM. Improved selective medium for the isolation of *Treponema hyodysenteriae*. J Clin Microbiol 1988; 26(11):2357-2360
266. - Calderaro A, Dettori G, Grillo R, Spinetti AP, Storchi-Incerti S, Cattani P, Chezzi, C. Evaluation of the in vitro activity of seven antimicrobial agents to be used for the isolation of human intestinal spirochaetes. New Microbiol 1997; 20(1):35-45.
267. - Lemcke RM, Bew J, Burrows MR, Lyson RJ. The growth of *Treponema hyodysenteriae* and other porcine intestinal spirochaetes in a liquid medium. Res Vet Sci 1979; 26:315-319.
268. - Kraaz W, Thunberg U, Pettersson B, Fellström C. Human intestinal spirochetosis diagnosed with colonoscopy and analysis of partial 16S rDNA sequences of involved spirochetes. Anim Health Res Rev 2001; 2(1):111-116.
269. - Calderaro A, Villanacci V, Conter M, Ragni P, Piccolo G, Zuelli C, Bommezzadri S, Guegan R, Zambelli C, Perandin F, Arcangeletti MC, Medici MC, Manca N, Dettori G, Chezzi C. Rapid detection and identification of *Brachyspira aalborgi* from rectal biopsies and faeces of a patient. Res Microbiol 2003; 154 (2):145-153.
270. - Sutter VL, Carter WT. Evaluation of media and reagents for indole-spot tests in anaerobic bacteriology. Am J Clin Pathol 1972; 58:335-338

271. - Hunter D, Wood T. (1979). An evaluation of the API ZYM system as a means of classifying a spirochaetes associated with swine dysentery. *Vet Rec* 1979; 104(17):383-384.
272. - Brooke JC. The occurrence and epidemiology of intestinal spirochaetes in humans in Western Australia (Ph.D. Thesis). Murdoch, Western Australia: School of veterinary and biomedical sciences, Murdoch University, 2003.
273. - Segalés J, Domingo M. La necropsia en el ganado porcino, diagnóstico anatomopatológico y toma de muestras. España: Boehringer Ingelheim, 2003.
274. - Olson LD. Enhanced isolation of *Serpulina hyodysenteriae* by using sliced agar media. *J Clin Microbiol* 1996; 34(12):2937-2941.
275. - Armed Forces Institute of Pathology Laboratory. Methods in Histotechnology. Prophet EB, Mills B, Arrington JB, Sobin LH, editors. American Registry of Pathology, Washington D. C., 1992:214-215.
276. - Corona BE, Jiménez FF, Munguía RJ, Rivera GK, Lagunas S, Fajardo MR, Pradal-Roa P. Aislamiento de Espiroquetas intestinales del género *Brachyspira* en el estado de México. Memorias del XLI Congreso Nacional de AMVEC; 2006 agosto 16-19; Ixtapa, (Guerrero) México: Asociación Mexicana de Veterinarios Especialistas en Cerdos, A.C, 2006:197.
277. - Muniappa N, Mathiesen MR, Duhamel GE. Laboratory identification and enteropathogenicity testing of *Serpulina pilosicoli* associated with porcine colonic spirochetosis. *J Vet Diag. Invest* 1997; 9(2):165-171.
278. - Kinyon JM, Harris DL, Glock RD. Enteropathogenicity of various isolates of *Treponema hyodysenteriae*. *Infect Immun* 1977; 15(2): 638-646
279. - Carvajal A, De Arriba ML, Rodriguez H, Vidal AB, Duhamel GE, Rubio P. Prevalence of *Brachyspira* species in pigs with diarrhoea in Spain. *Vet Rec* 2006; 158(20): 700-701.
280. - Strauch D, Ballarini G. Hygienic aspects of the production and agricultural use of animal wastes. *J Vet Med B* 1994; 41:176-228.
281. - Stanton BT, Jensen SN. Monitoring experimental swine dysentery: rectal swab blood test and *Serpulina (Treponema) hyodysenteriae* detection. *Vet Microbiol* 1993; 34(4):389-396.
282. - Olson LD, Fales WH. Comparison of stained smears and culturing for identification of *Treponema hyodysenteriae*. *J Clin Microbiol* 1983; 18(4):950-955.

283. - Barcellos DE, Mathiensen M, Duhamel GE. Survival of pathogenic intestinal spirochetes kept in pure cultures and pig feces held at four different temperatures. *Acta Sci Vet* 2002; 30(3):151-157.
284. - Olson LD. Survival of *Serpulina hyodysenteriae* in an effluent lagoon. *J Am Vet Med Assoc* 1995; 207(11):1470-1472
285. - Oxberry SL, Trott DJ, Hampson DJ. *Serpulina pilosicoli*, waterbirds and water: potential of infection for humans and other animals. *Epidemiol Infect* 1998; 121(1):219-25.
286. - Boye M, Baloda SB, Leser TD, Møller K. Survival of *Brachyspira hyodysenteriae* and *Brachyspira pilosicoli* in terrestrial microcosms. *Vet Microbiol* 2001; 81(1): 33-40.
287. - Phillips ND, La T, Hampson DJ. Survival of intestinal spirochaete strains from chickens in the presence of disinfectants and in faeces held at different temperatures. *Avian Pathol* 2003; 32(6):639-643.
288. - Mirko CP, Bilkei G. Risk factors associated with *Brachyspira hyodysenteriae* PCR-positivity in East-European pig production units. *Tijdschr Diergeneeskd* 2006; 131:398-402.
289. – Corona-Barrera E, Smith DGE, Murray B, Thomson JR. The efficacy of seven disinfectant-sanitisers on field isolates of *Brachyspira pilosicoli*. *Vet Rec* 2004; 154:473-474.
290. - Lovobá D, Cizek A. Bactericidal efficacy of two disinfectants against *Brachyspira hyodysenteriae* and one feed supplement against *B. hyodysenteriae* and *B. pilosicoli*. *Vet Med Czech* 2004; 49(5):156-160.
291. - Calderaro A, Bommezzadri S, Piccolo G, Zuelli C, Dettori G, Chezzi C. Rapid isolation of *Brachyspira hyodysenteriae* and *Brachyspira pilosicoli* from pigs. *Vet Microbiol* 2005; 105(3-4):229-234.
292. - Calderaro A, Meriardi G, Perini S, Ragni P, Guegán R, Dettori G, Chezzi C. A novel method for the isolation of *Brachyspira (Serpulina) hyodysenteriae* from pigs with swine dysentery in Italy. *Vet Microbiol* 2001; 80(1): 47-52.
293. - Calderaro A, Dettori G, Grillo G, Cattani R, Chezzi C. Comparative growth of pure cultures of human intestinal spirochaetes in six selective media. *New Microbiol* 1997; 20(1):47-54.
294. - Duhamel GE, Muniappa N, Kramer JR. Phenotypic and genotypic analysis of weakly b-hemolytic intestinal spirochetes associated with human and rhesus monkey colonic spirochetosis. *Proceedings Conference of Research Workers in Animal Diseases*. 1995. Abstract 82.

295. - Brooke JC, Riley VT, Hampson DJ. Evaluation of selective media for the isolation of *Brachyspira aalborgi* from human faeces. J Med Microbiol 2003; 52:509-513.
296. - Barcellos DE, Razia LE, Borowski SM. Occurrence and identification of swine intestinal spirochetes in industrial pig herds from two raising areas in the state of Rio Grande do Sul, Brazil, in relation to feed medication. Cienc Rural 2003; 33(4):725-729.
297. - Fellström C, Melin L, Wierup M, Gunnarsson A. Isolation of *Serpulina* species in Swedish pig herds with diarrhea. Proceedings of 15th International Pig Veterinary Society Congress 1998 July 5-9. Birmingham, England: International Pig Veterinary Society, 1998; 2:59.
298. - Heinonen M, Fossi M, Jall J-P, Salonemi H, Tuorinen V. (1998). Prevalence of *Serpulina* species in herds rearing health class (LSO 2000) feeder pigs. Proceedings of 15th International Pig Veterinary Society Congress 1998 July 5-9. Birmingham, England: International Pig Veterinary Society, 1998; 2:57.
299. - Badiola I, Marca J, Badia J, Rodriguez-Arriola GM, Pérez-Ruiz, De la Calzada. Determination of susceptibilities of strains of *Brachyspira hyodysenteriae* to tiamulina in Spain. Proceedings of 19th International Pig Veterinary Society Congress; 2006 July 16-20; Copenhagen, Denmark: International Pig Veterinary Society, 2006; 2:460.
300. - Burch DGS, Webster G, Morgan M, McDonal M, Klein U. Comparative efficacy of Tiamutin and Lincospectin in drinking water for treatment of mixed enteric respiratory infections in finishing pigs. Proceedings of 19th International Pig Veterinary Society Congress; 2006 July 16-20; Copenhagen, Denmark: International Pig Veterinary Society, 2006; 2:343.
301. - Rønne H, Szacer J. In vitro susceptibility of Danish field isolates of *Treponema hyodysenteriae* to chemotherapeutics in swine dysentery (SD) therapy. In Proceedings of 11th International Pig Veterinary Society Congress 1990, Lausanne (Suiza). International Pig Veterinary Society, 1990: 126.
302. - Pringle M, Landén A, Franklin A. Tiamulin resistance in porcine *Brachyspira pilosicoli* isolates. Res Vet Sci 2006; 80(1):1-4.
303. - Novotná M, Skardová O. *Brachyspira hyodysenteriae*: detection, identification and antibiotic susceptibility. Vet Med Czech 2002; 47(4):104-109.
304. - Dünser M, Schwieghardt H. Antimicrobial susceptibility testing for Econor, Tiamulin and Lincomycin against *Serpulina hyodysenteriae* and weakly beta haemolytic intestinal spirochaetes. Proceedings of 15th International Pig Veterinary Society Congress; 1998 July 5-9. Birmingham, England: International Pig Veterinary Society, 1998:14-16.
305. - Messier S, Higgins R, Moore C. Minimal inhibitory concentrations of five antimicrobials against *Treponema hyodysenteriae* and *Treponema innocens*. J Vet Diagn Invest 1990; 2(4):330-333.

306. - Buller NB, Hampson DJ. Antimicrobial susceptibility testing of *Serpulina hyodysenteriae*. Austr Vet J 1994; 71(7):211-214.
307. - Fossi M, Pohjanvirta T, Pelkonen S. Molecular epidemiological study of *Brachyspira pilosicoli* in Finish sow herds. Epidemiol Infect 2003; 131:967-973.
308. - Karlsson M, Aspan A, Landen A, Franklin A. Further characterization of porcine *Brachyspira hyodysenteriae* isolates with decreased susceptibility to tiamulina. J Med Microbiol 2004; 53:281-285.
309. – Harris AW, Misiewicz JJ. Multi-site Pig Production. United States: Iowa State University Press, 2000.
310. - Albassam MA, Olander HJ, Thacker HL, Turek JJ. Ultrastructural characterization of colonic lesions in pigs inoculated with *Treponema hyodysenteriae*. Can J Comp Med 1985; 49(4):384-390.
311. - Glock RD, Harris DL. Swine dysentery. II. Characterization of lesions in pigs inoculated with *Treponema hyodysenteriae* in pure and mixed culture. Vet Med Small Anim Clin 1972; 67(1):65–68