

DIARREA POSTDESTETE PREVALENCIA *ESCHERICHIA COLI* EN ESPAÑA

Lorena Pérez

Miguel Claver

Xavier Piqué

Pedro J. Sánchez

Servicio Técnico Porcino, Elanco Spain

La diarrea post-destete (DPD), es una de las mayores causas de pérdidas económicas en la industria porcina debido tanto a la mortalidad como a la reducción del crecimiento de los animales (Fairbrother et al., 2005). La principal causa de la enfermedad se debe a cepas de *Escherichia coli* conocidas como *Escherichia coli* enterotoxigénico (ETEC), las cuales, tienen la capacidad de expresar diferentes tipos de fimbrias o adhesinas, además de toxinas (enterotoxinas).

Escherichia coli es una bacteria que reside en el intestino sin causar ningún tipo de lesión. Se divide en serotipos en función de los antígenos somáticos (O), capsulares (K), flagelares (H) y fimbriales (F). Solamente una pequeña proporción de serotipos se consideran patógenos. Estos serotipos se clasifican como patotipos en función de los mecanismos de virulencia que son los que caracterizan la forma en la que se va a desarrollar la enfermedad. Las cepas de cada patotipo se clasifican como virotipos en función de la combinación de sus factores de virulencia.

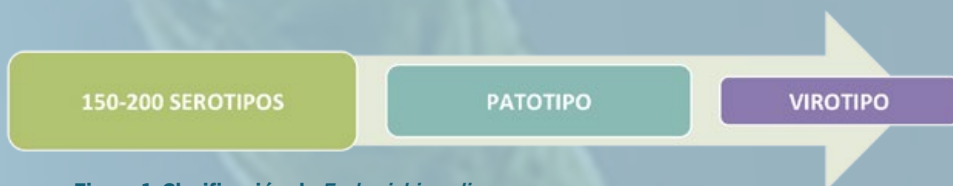


Figura 1. Clasificación de *Escherichia coli*.

Los diferentes patotipos de *Escherichia coli* enterotoxigénico asociados a la diarrea postdestete se asocian principalmente con las fimbrias F4 y/o F18 (Fairbrother et al.2005).

Generalmente, se producen una o más enterotoxinas; las más frecuentes son las toxinas termoestables (STa y STb) y la toxina termolábil (LT).

Existe otra toxina que recibe el nombre de **verotoxina o Shigatoxina (Stx2e)** la cual se produce por cepas de ETEC F18. Principalmente es producida por el subtipo ETEC F18ab ya que ETEC F18ac produce toxinas STa, Stb y LT. **Stx2e** causa otro cuadro patológico conocido como enfermedad de los edemas.

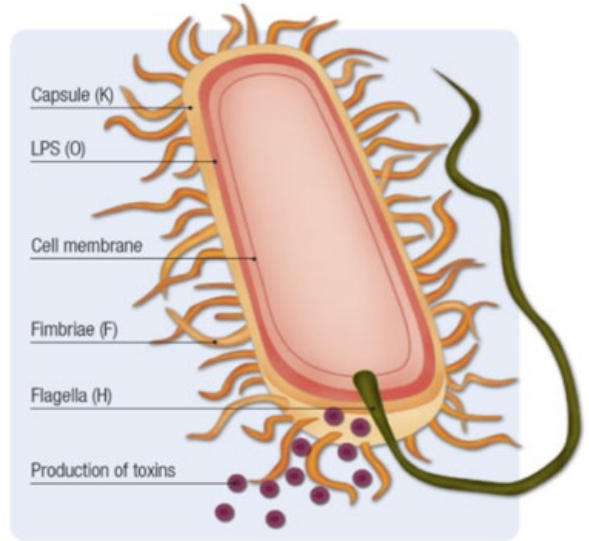


Figura 2. Representación esquemática de *Escherichia coli* y sus factores de virulencia. (Fairbrother J.M.)

Stx2e es absorbida desde el intestino a la circulación causando un daño vascular en diversos órganos.

El principal síntoma que se destaca en esta enfermedad es el edema de submucosa de mesocolon y estómago.

Existe la posibilidad de que puedan coexistir divers cepas en un solo animal. Se ha llegado a identificar hasta 25 cepas de *Escherichia coli* en el tracto intes de un solo lechón (Hinton et al.1985). Se suele encor en ocasiones, en un brote particular de la granja o en un mismo cerdo, la asociación de la diarrea postdestete junto con la enfermedad de los edema

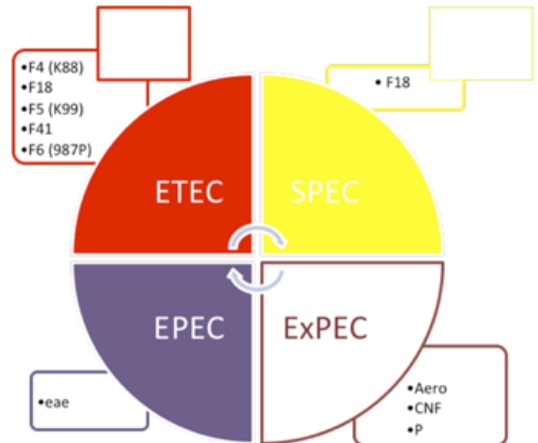


Gráfico 1. Patotipos y sus factores de virulencia (Gyles and Fairbrother, 2010)

El gráfico 1 muestra los diferentes patotipos de *Escherichia coli* que existen junto con los factores de virulencia a los que se asocian

El porcentaje de lechones destetados que pueden sufrir diarrea postdestete es variable (25% a 50%). Aunque la mortalidad no suele superar el 10%, si no hay un buen tratamiento y/o prevención podría aumentar hasta un 25% ocasionando pérdidas económicas que pueden llegar a 40 euros por cerda y año (Sjolund M et. al.2014).

La mortalidad podría explicarse por diversos factores, como la pérdida de anticuerpos que se produce en el momento del destete la cual contribuye significativamente a la susceptibilidad de infecciones entéricas por Escherichia coli (Deprez et al.1986). Por lo tanto, la edad de destete se puede considerar como un factor de riesgo para el desarrollo de la enfermedad.



La diarrea postdestete (DPD) se ha observado a nivel mundial y, según la zona geográfica, van a predominar unos patotipos por encima de otros. (Fairbrother et al. 2000).

MATERIALES Y MÉTODOS

Desde mediados de junio del año 2015, Elanco Iberia comenzó un estudio de prevalencia de *Escherichia coli* enterotoxigénico y sus factores de virulencia en granjas de España.

Durante la elaboración del presente estudio se siguió en todo momento una guía de buenas prácticas de muestreo. Las normas incluidas en esta guía fueron las siguientes:

En primer lugar, se seleccionaron entre 1 y 3 corrales en los cuales los lechones destetados en fase pre-starter eran alimentados con pienso sin mediación alguna.

De no ser así, ciertos Escherichia coli patógenos podrían haber sido enmascarados si el pienso que consumen los lechones llevara incorporado ZnO u otras medicaciones. Por otro lado, sobre cada muestra positiva a Escherichia coli por cultivo, se realizó el pertinente antibiograma que hubiera sido alterado en el caso de que los lechones hubieran recibido algún tipo de tratamiento.

El envío de las muestras fue acompañado por un cuestionario epidemiológico en el que se reflejaron datos como el tipo de síntomas de la granja, el proceso de toma de muestras, tratamientos llevados a cabo previamente y datos referentes a la alimentación de los cerdos.

Aparte del ZnO, se tuvieron en cuenta otros factores como la presencia de altos niveles de proteína en el pienso, agentes acidificantes y el uso de plasma; lo que se podía producir era un retraso en la aparición de las diarreas, de hasta 6-8 semanas postdestete.

Se tomaron una media de 2,8 hisopos rectales con medio enriquecido por granja.

La toma de muestras se realizó en las primeras 24 horas de la aparición de las diarreas, tras la obtención de las muestras, éstas se remitieron al laboratorio de referencia bajo refrigeración y en el menor tiempo posible.

El proceso diagnóstico realizado en cada muestra es el siguiente:

En primer lugar, se realizó un cultivo bacteriológico general y selectivo a partir de las torundas rectales remitidas por el veterinario responsable de la explotación.

En aquellos cultivos donde se detectó crecimiento de colonias compatibles con *Escherichia coli*, se procedió a la detección de sus factores de virulencia.

Para ello, se enviaron los cultivos al IZSLER, donde se realizó un diagnóstico de los factores de virulencia de *Escherichia coli* asociados a *Escherichia coli* enterotoxigénico (ETEC).

El método de diagnóstico consistió en la realización de una PCR múltiple para la detección de las enterotoxinas STa, STb y LT, así como las fimbrias F4, F18, F5, F6 y F41.

Siguiendo las pautas anteriormente explicadas, se pudo realizar un correcto diagnóstico de las diferentes cepas de *Escherichia coli* en las diferentes granjas analizadas.

Desde el punto de vista legislativo, existe una gran concienciación por el uso responsable de antibióticos, principalmente destacando la reducción de los niveles de colistina. Se puede establecer el estado sanitario de la granja y a partir de aquí, decidir las medidas que se van a llevar a cabo para lograr una adaptación a la nueva legislación, lo que supone un nuevo reto en la producción porcina.

Tras la obtención de los resultados se estableció un mapa de prevalencias de ETEC en España. La figura 3 muestra el porcentaje de granjas muestreadas según la comunidad autónoma.

Se suele encontrar, en un brote particular de la granja o en un mismo cerdo, la asociación de la diarrea postdestete junto con la enfermedad de los edemas



Figura 3. Porcentaje de granjas analizadas por comunidad autónoma.

La distribución territorial de las mismas es variable concentrándose principalmente en la zona sur (21,6%), así como la noreste (36,2%) y centro de España (20,4%). El censo mayoritario donde se realizó el muestreo se concentró en Cataluña, Murcia y Aragón con un 24,9%, 18,4% y 16,2% respectivamente.

RESULTADOS

Hasta el momento se han muestreado un total de 166 granjas. Se han obtenido un total de 470 muestras (2,8 muestras por granja). En la tabla 1 se muestra a modo de resumen las diferentes prevalencias que se han diagnosticado. En la primera columna aparecen los porcentajes de los diferentes patotipos de ETEC teniendo en cuenta aquellas granjas en las que no se ha encontrado *Escherichia coli*, mientras que en la segunda columna se descartan aquellas granjas negativas a la bacteria.

GRANJAS TOTALES (%)		GRANJAS SÓLO POSITIVAS A <i>E.coli</i> (%)	
ETEC F4	21,08	ETEC F4	32,11
ETEC F18	30,72	ETEC F18	46,79
ETEC F4 + ETEC F18	9,64	ETEC F4 + ETEC F18	14,68
OTROS (F5, F6, F41)	4,22	OTROS (F5, F6, F41)	6,42
AUSENCIA	34,34	-	-

Tabla 1. Porcentaje de las diferentes cepas de *Escherichia coli* en función de las granjas muestreadas.

Los resultados obtenidos hasta ahora muestran una prevalencia de granjas positivas a Escherichia coli F4 del 21,08%.

Si tenemos en cuenta sólo aquellas granjas en las que se ha aislado algún tipo de *Escherichia coli*, el porcentaje se eleva a un 32,11%. Esto se debe a que hay un porcentaje relativamente alto de granjas negativas, es decir, granjas donde aun habiendo síntomas de diarrea en lechones destetados, no se ha encontrado ningún tipo de *Escherichia coli*.

Según los resultados que figuran en la anterior tabla, las cepas más prevalentes para el patotipo ETEC serían, en primer lugar, ETEC positivo a F18 y en segundo lugar estaría ETEC positivo a F4 con un 30,72% y 21,08% de prevalencia. La proporción de infección mixta causada por ETEC F18 y ETEC F4 sería de un 9,64%.

El porcentaje de variantes ETEC F5, ETEC F6 y ETEC F41 se ha hallado en muy baja proporción (4,22%) en comparación con las anteriormente mencionadas ya que el momento de muestreo se realiza en edad de postdestete y estos patotipos se asocian principalmente a la diarrea neonatal.

Se puede observar el gráfico 2 en el que se muestra el porcentaje de las diferentes cepas de ETEC diagnosticadas hasta el momento.

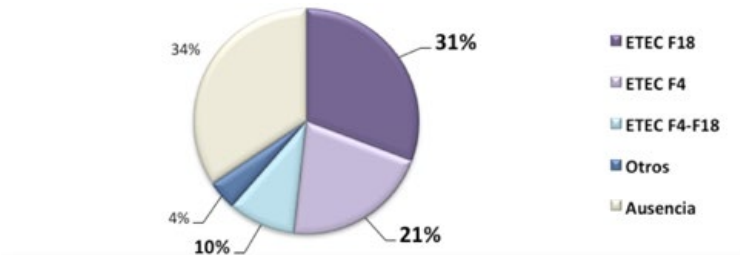


Gráfico 2. Prevalencia de diferentes cepas de *Escherichia coli* enterotoxigénico hallados en granjas españolas.

En comparación, si se analizan únicamente aquellas granjas en las que se ha aislado *Escherichia coli* la prevalencia fue la mostrada en el gráfico 3.

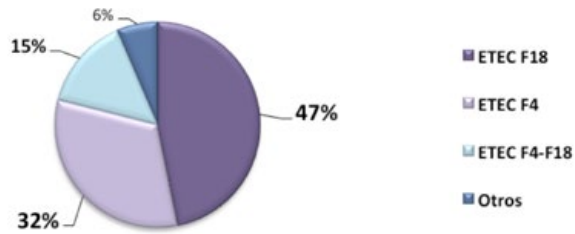


Gráfico 3. Prevalencia de las diferentes cepas de ETEC halladas en granjas positivas a algún tipo de *Escherichia coli*.

Con este gráfico se observó de forma clara la distribución de los patotipos de ETEC. Se observa que la mitad de las granjas son positivas a ETEC F18, mientras que un 32% lo son para ETEC F4.

Las variantes de *Escherichia coli* enterotoxigénica más frecuentemente encontradas fueron, ETEC positivo a F18 STa/STb/LT, y ETEC positivo a F4 STb/LT.

La diarrea postdestete (DPD) se ha observado a nivel mundial y, según la zona geográfica, van a predominar unos patotipos por encima de otros

● Prevalencia ETEC y número de muestras

Según el total de muestras analizadas (470 muestras), los resultados de prevalencia fueron de un 20,27% para ETEC F4 y 26,58% para ETEC F18. En las muestras positivas a *Escherichia coli* los resultados fueron 35,10% y 46,03% respectivamente.

Del mismo modo, en el resultado porcentual en función del número de muestras, se estableció una mayor prevalencia en el caso de ETEC F18 seguido de ETEC F4 con un 28% y 22% respectivamente. Siguió siendo frecuente encontrar muestras que tras ser analizadas no muestran ningún tipo de ETEC (42,26%).

El gráfico 4 muestra los resultados obtenidos con respecto al número de muestras. Hubo un elevado porcentaje de muestras donde no se halló ningún tipo de *Escherichia coli*. Probablemente se deba a una inadecuada toma de muestras ya que en algunos casos se muestrearon animales medicados con ZnO y antibióticos.

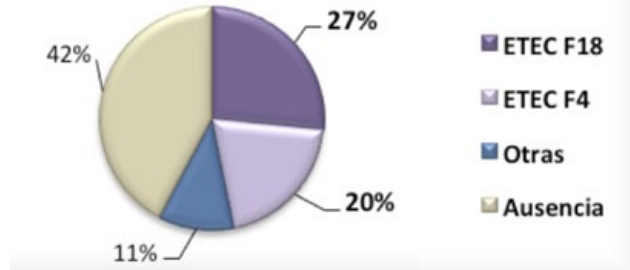


Gráfico 4. Distribución resultados para ETEC y sus factores de virulencia en función del número de muestras.

En aquellos casos donde la diarrea presente en transición era de difícil control se practicó el correspondiente antibiograma, revelando que los antibióticos que muestran un mayor porcentaje de sensibilidad frente a *Escherichia coli* son Ceftiofur, Amoxicilina+Clavulánico y Marbofloxacina (81,2%, 75,4% y 40,6% respectivamente). Por otro lado, los antibióticos que más resistencias han mostrado frente a la bacteria han sido varios, principalmente Espectinomina, Ampicilina y Amoxicilina con un 100%, 97,1% y 95,7% respectivamente. E

la 2 se muestran los porcentajes de sensibilidad de *Escherichia coli* para diferentes antibióticos. La sensibilidad a cada antibiótico se divide en tres grupos: resistente, intermedio y sensible.

ANTIBIÓTICO	ANTIBIOGRAMA (%)		
	R	I	S
AMPICILINA	97,1	1,4	1,4
AMOXICILIA	95,7	0,0	4,3
AMOXICILINA + CLAVULÁNICO	1,4	21,7	75,4
GENTAMICINA	66,7	2,9	30,4
OXITETRACICLINA	92,8	1,4	5,8
COLISTINA	21,7	58,0	20,3
SULFAMETOXAZOL + TRIMETOPRIM	79,7	1,4	18,8
APRAMICINA	58,0	11,6	30,4
ENROFLOXACINA	59,4	1,4	39,1
MARBOFLOXACINA	56,5	2,9	40,6
NEOMICINA	73,9	20,3	5,8
ESPECTINOMICINA	100,0	0,0	0,0
CEFTIOFUR	10,1	8,7	81,2
ESPECTINOMICINA	100,0	0,0	0,0
CEFTIOFUR	10,1	8,7	81,2

Tabla 2. Antibiograma realizado para *Escherichia coli*

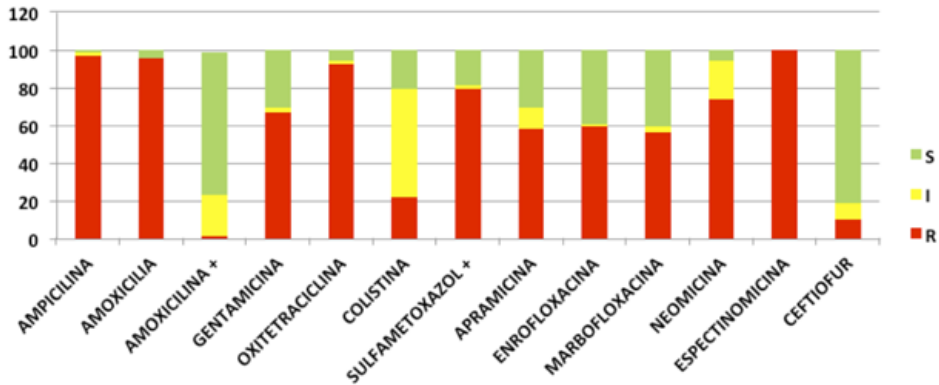


Gráfico 5. Distribución de la sensibilidad antibiótica para *Escherichia coli*.

Respecto a la presencia de virus en las muestras, se realizó diagnóstico en aquellas granjas donde se sospechaba que pudiera ser la causa de las diarreas, hallándose hasta el momento resultados positivos a GETv y Rotavirus.

DISCUSIONES

Los resultados hallados hasta ahora muestran una mayor prevalencia de ETEC F18 con respecto a ETEC F4 (21,08% vs 30,72%). Si revisamos en la bibliografía, existen resultados dispares entre las prevalencias para ETEC F18 y ETEC F4.

El estudio de Luppi A. et al., (2012) el cual comenzó en el año 2002 y duró hasta 2012. Aislaron un total de 614 muestras de *Escherichia coli* hemolítico.

Los resultados mostraron que la prevalencia de *Escherichia coli* positivo a F4 comenzó siendo de un 89,8% en 2002 disminuyendo hasta un 64,4% en 2012. La prevalencia de *Escherichia coli* positivo a F18 aumentó de un 10,2% en 2002 hasta un 35,6% en 2012.

Este estudio indica que la prevalencia de *Escherichia coli* F4 ha ido disminuyendo a lo largo de los años, mientras que la de *Escherichia coli* F18 ha aumentado significativamente ($p < 0.01$).

Estudios puntuales, como el llevado a cabo por Moreno M. et al. (2011) en Brasil mostraron una prevalencia mayor en el caso de *Escherichia coli* positivo a F4 respecto a *Escherichia coli* positivo a F18 (43,48% vs. 39,13%). Nagy B. et al. (1990) detectaron una mayor prevalencia de ETEC F4 (61%) en un total de 59 granjas con diarrea postdestete.

Del mismo modo, en Dinamarca, Frydendahl et al. (2002) obtuvieron ETEC F4 y ETEC F18, con un 44,7% y 39,3% respectivamente. Esto concuerda con lo obtenido en USA por Zhang W. (2007), ya que obtuvieron prevalencias de 64,6% para ETEC F4 y 34,3% para ETEC F18.

Por el momento, la situación en España difiere de los estudios anteriormente mencionados, ya que no siguen la misma distribución de prevalencias.

Aunque la diferencia entre ETEC positivo a F4 y ETEC positivo a F18 sigue un patrón parecido como muestran los otros estudios (9,64% de diferencia).

Otros estudios, se ajustan más al caso de España ya que se hallaron mayores prevalencias de ETEC positivo a F18 como está ocurriendo hasta ahora en nuestro país.

El estudio llevado a cabo por Karen W. et al. (2000) en Carolina del Norte obtuvo una prevalencia de ETEC 18 mayor, con un 53,14% mientras que ETEC F4 resultó en un 50,3%. Del mismo modo, en Vietnam, otro estudio llevado a cabo por Do NT et al. (2006) mostró un mayor porcentaje de ETEC positivo a F18 respecto a ETEC positivo a F4 (48,15% vs. 18,52%).

Si analizamos los resultados obtenidos para ETEC positivo a F5, F6 y/o F41 la prevalencia es mucho menor (4,22%) que para ETEC positivo a F18 y ETEC positivo a F4.

Como se ha mencionado en apartados anteriores, probablemente se deba al momento de la toma de muestras, ya que ETEC F5, F6 y F41 se asocian principalmente a la diarrea neonatal. En este caso las muestras se recogen de lechones destetados.

En China, Xuefeng Q. et al., tomaron muestras de diarrea desde el año 2008 al 2010 en lechones con diarrea neonatal y lechones con diarrea postdestete (1 a 50 días de edad). Obtuvieron un 60,2% de ETEC positivo a F5, pero de este porcentaje el 52% correspondía a muestras de diarrea neonatal. La mayoría de diarrea postdestete se vio causada por ETEC F18 (14,4%) y ETEC F4 (9,6%).

Por otro lado, se ha hallado un elevado porcentaje de granjas negativas a *Escherichia coli* aun teniendo síntomas compatibles con esta bacteria. Aunque ha habido una disminución de granjas negativas a *Escherichia coli* desde noviembre de 2015 hasta abril de 2016 (34% vs 30%), hay que seguir incidiendo en las buenas prácticas de muestreo ya que se podría pensar que este porcentaje de granjas negativas son en realidad falsos negativos.

Se necesita ser muy preciso en la toma de muestras para evitar estos casos ya que se podrían estar enmascarando ciertos *Escherichia coli* patógenos.

La tabla 3 recoge las prevalencias ETEC F4 y ETEC F18 de los estudios anteriores y los compara con los datos obtenidos hasta el momento en España.

PAÍS	ETEC F4 (%)	ETEC F18 (%)	Referencia
España	21,08	30,72	Elanco Iberia
Dinamarca	44,70	39,30	Frydendahl et al.
USA	64,60	34,30	Zhang et al.
Italia	64,40	35,60	Luppi et al. (2012)
Carolina del Norte	50,30	53,14	Karen et al. (2000)
Brasil	43,48	39,13	Moreno et al. (2011)
Australia	21 aprox.	15 aprox.	Limm et al. (2013)
Vietnam	18,52	48,15	Do NT et al. (2006)

Tabla 3. Prevalencia de *Escherichia coli* enterotoxigénico en los diferentes países.

CONCLUSIONES

● **Importancia de las buenas prácticas de muestreo:** es crucial que la toma de muestras se realice según se ha descrito anteriormente. Uno de los objetivos del presente estudio es evitar un diagnóstico erróneo. Por ello, hay que saber cuándo, cómo y qué medidas tomar a la hora de recoger la muestra.

Como se ha mencionado con anterioridad, se observa un alto porcentaje de granjas negativas a *Escherichia coli* en las que existen casos de diarrea compatible con la misma. En la fase de producción en la cual se realiza el muestreo suele haber un alto consumo de antimicrobianos, lo cual dificulta un correcto diagnóstico de *Escherichia coli*.

Por otra parte, hay que tener un historial de la granja para poder descartar procesos víricos ya que en aquellas granjas que presenten problemas de este tipo sería interesante hacer un diagnóstico encaminado a patología vírica.

Las cepas dominantes de *Escherichia coli* enterotoxigénica son capaces de cambiar de un patotipo a otro en una misma granja a lo largo del tiempo, por lo que conviene hacer diagnósticos periódicos de las granjas para tener los datos fiables de los patotipos implicados en cada explotación.

● **Prevalencia de ETEC positivo a F18 y ETEC positivo a F4:** la prevalencia obtenida hasta ahora de los diferentes factores de virulencia de *Escherichia coli* enterotoxigénico en Iberia muestra que hay una mayor proporción de ETEC positivo a F18 en comparación con ETEC positivo a F4.

● **Toxinas:** hasta el momento se ha encontrado una gran diferencia de prevalencias respecto a las toxinas que se asocian a cada ETEC. En el caso del presente estudio, ETEC F18 es productor en la mayoría de los casos de las toxinas STa/STb/LT, mientras que ETEC F4 produce principalmente toxinas STb/LT.

● **Antibiograma:** se ha podido observar el alto porcentaje de resistencias que muestran en general la mayoría de antibióticos. Según datos obtenidos, solamente 2 antibióticos de un total de 13 pueden ser útiles para tratar la diarrea postdestete. Sin embargo, estos datos han de ser estudiados y ampliados según avanza el estudio. Se hace necesario promover desde Elanco el uso responsable de antibióticos con el fin de evitar en la medida de lo posible estas resistencias. Por ello, llevar a cabo un buen diagnóstico y tratamiento de la DPD es crucial para evitar en la medida de lo posible la aparición de estas resistencias.

● **Otros patógenos:** Se ha observado durante el proceso de muestreo que hay un cierto porcentaje de granjas en las que se ha detectado la presencia de ciertos virus intestinales que causan diarrea en postdestete. Valdría la pena llevar a cabo diagnósticos víricos en aquellas granjas en las que el cuestionario epidemiológico no sea demasiado preciso.

El estudio de prevalencia de *Escherichia coli* en España llevado a cabo por Elanco Iberia ha permitido obtener un gran número de datos. Es un proceso largo que se ha de continuar para obtener el mayor número de prevalencias de *Escherichia coli* enterotoxigénica en España.

Se observó un porcentaje relativamente alto de granjas negativas, donde aun habiendo síntomas de diarrea en lechones destetados, no se encontró ningún tipo de *Escherichia coli*

* La bibliografía estará a disposición de quien la necesite.