

Rev Biomed 2001; 12:244-248.

Aislamiento e identificación serológica de Erysipelothrix rhusiopathiae de cerdos con lesiones sistémicas compatibles con las del mal rojo en la República Argentina.

Artículo Original

Julio Copes¹, Victorio Nievas², Germán Vigo², Maria Sánchez³, Guillermo Bagnis⁴, Vivian Martín⁴, Héctor Sanguinetti⁵, Carlos Juan Perfumo⁵.

¹Cátedra de Tecnología y Sanidad de los Alimentos. ²Laboratorio de Diagnóstico e Investigaciones Bacteriológicas. ³Fac. Cs. Vet. y Pec. U. de Chile. Santiago, Chile. ⁴Dpto de Pat. Animal UNRC. ⁵Inst. de Patología "Dr. B. Epstein", Facultad de Ciencias Veterinarias. Universidad Nacional de La Plata, Argentina.

RESUMEN.

Objetivos. Investigar la presencia *Erysipelothrix rhusiopathiae* en cerdos de las categorías crecimiento y engorde con lesiones sistémicas no cutáneas compatibles con las de mal rojo (MR) provenientes de dos granjas, situadas en la provincia de Buenos Aires, Argentina.

Materiales y Métodos. Muestras de tonsilas, corazón (endocardio), bazo, riñón y líquido articular con lesiones compatibles con las del mal rojo se inocularon en caldo ESB y se repicaron en medio sólido MBA. A partir de colonias similares a las del género *Erysipelothrix*, se realizaron tinción de Gram y pruebas fisiológicas y bioquímicas. La identificación serológica se llevó a cabo por la prueba de inmunodifusión doble en gel de agarosa enfrentando antígenos extractados de las cepas en estudio contra sueros hiperinmunes de los 28

serotipos de referencia de *E. rhusiopathiae*.

Resultados. Se aisló *E. rhusiopathiae* de dos cerdos a partir de tonsilas (sin lesiones aparentes), bazo (con esplenomegalia), endocardio valvular (con lesiones de endocarditis) y exudado articular (no purulento). En otro animal sólo se lo aisló de exudado articular. Las tres cepas de *E. rhusiopathiae* correspondieron al serotipo 10. El aislamiento de *E. rhusiopathiae* se dificultó debido al crecimiento de bacterias de los géneros *Lactobacillus spp* y *Enterococcus spp* que enmascararon o compitieron en el desarrollo de las colonias.

Discusión. El *E. rhusiopathiae* serotipo 10 es raramente aislado de cerdos y no se lo ha asociado a cuadros clínicos de erisipela. El aislamiento *E. rhusiopathiae* serotipo 10 de lesiones sistémicas no cutáneas compatibles con las del MR del cerdo,

Solicitud de sobretiros: M.V. Julio Copes, CC 296 (1900), La Plata, Argentina.

E-mail: jcopies@fcv.medvet.unlp.edu.ar Tel/Fax: +54-221-4257980

Recibido el 1/Septiembre/2000. Aceptado para publicación el 16/Enero/2001.

Este artículo está disponible en <http://www.uady.mx/~biomedic/rb011244.pdf>

J Copes, V Nievas, G Vigo, M Sánchez, G Bagnis, V Martín, H Sanguinetti, C Juan Perfumo.

constituye la primera referencia de la infección del cerdo por *E. rhusiopathiae* en el país así como de la patogenicidad de dicho serotipo. (*Rev Biomed 2001; 12:244-248*)

Palabras claves: *Erysipelothrix rhusiopathiae*, mal rojo, erisipela porcina, cerdos.

SUMMARY.

Isolation and serological identification of *Erysipelothrix rhusiopathiae* from systemic lesions resembling erysipelas in Argentina.

Objetives. This study has investigated the isolation of *Erysipelothrix rhusiopathiae* from growing and fattening pigs with systemic gross lesions resembling erysipelas in La Plata Argentina.

Materials and methods. Samples from tonsils, heart (endocardium), spleen, kidneys and synovial fluid with gross lesions/ changes resembling erysipelas were cultured into ESB broth and streaked onto MBA agar. *Erysipelothrix rhusiopathiae* strains were identified by morphological characteristics and biochemical test. Serotyping was carried out in a gel double-diffusion test with extracted antigen from the isolated strains against the specific hyperimmune sera from the 28 *E. rhusiopathiae* reference strains.

Results. *Erysipelothrix. rhusiopathiae* was isolated from tonsils (without lesions), spleen (with splenomegalia), endocardium (with endocarditis) and serous fibrinous synovial exudate of two pigs and only from synovial exudate of one pig. All the isolated strains belong to serotype 10. Primary isolation of *E. rhusiopathiae* was difficult because of the growth of bacteria of genus *Lactobacillus spp* and *Enterococcus spp* in both medium despite the addition of antibiotics.

Discussion. Isolation of *Erysipelothrix. rhusiopathiae* serotype 10 associated with clinical erysipelas is relatively rare.

The isolation of *Erysipelothrix rhusiopathiae* serotype 10 from non-cutaneous systemic lesions compatible with erysipelas in pigs constitutes the

first reference of this infection in swine in Argentina. It also provide evidence of the pathogenicity of this serotype for swine. (*Rev Biomed 2001; 12:244-248*)

Key words: *Erysipelothrix rhusiopathiae*, erisipela, pigs.

INTRODUCCIÓN.

El mal rojo del cerdo (MR) o erisipela porcina, es una enfermedad infectocontagiosa de distribución mundial producida por la bacteria *Erysipelothrix rhusiopathiae*, que provoca grandes pérdidas económicas en las explotaciones porcinas (1).

El MR se caracteriza por producir un cuadro clínico-patológico de curso agudo, subagudo o crónico. La presentación crónica puede ser la secuela de las anteriores o el resultado de una infección subclínica. Se caracteriza por producir artritis, endocarditis y lesiones cutáneas. El *E. rhusiopathiae* ha sido aislado en diferentes países como Japón, Hungría, Estados Unidos, Australia y Chile a partir de animales clínicamente sanos, principalmente de tonsilas, o de cuadros clínicos agudos o crónicos y con lesiones de endocarditis y/o artritis (2-4).

Son susceptibles los cerdos de cualquier edad, sin embargo, se presenta con mayor frecuencia en animales de más de tres meses y hasta el peso de faena (1). Los cerdos portadores, clínicamente sanos, representan la fuente más importante de infección, siendo las tonsilas el lugar de colonización de *E.rhusiopathiae* (4).

En la República Argentina *E. rhusiopathiae* ha sido aislado de corderos, terneros, pescados, baños antisárnicos y de otras fuentes (5). Así mismo, lesiones cutáneas tipo erisipeloide fueron descritas en trabajadores de plantas faenadoras de cerdos (5). Sin embargo, al presente *E. rhusiopathiae* no había sido aislado de cerdos con lesiones sistémicas compatibles con las del MR.

Se realizaron estudios bacteriológicos de cinco

Aislamiento de Erysipelotrix rhusiopathiae en cerdos en Argentina.

cerdos de las categorías crecimiento y engorde con lesiones sistémicas no cutáneas compatibles con las del MR, provenientes de dos granjas situadas en la provincia de Buenos Aires.

MATERIALES Y MÉTODOS.

Antecedentes de las granjas.

Los animales estudiados provinieron de dos granjas situadas en vecindad de la ciudad de La Plata. La granja 1 estaba compuesta por 800 madres en confinamiento con un manejo "todo adentro-todo afuera" en maternidad y recría 1. Se aplicaba un plan de vacunación contra las enfermedades, reproductivas y respiratorias, incluyendo en esta última *E. rhusiopathiae* serotipo 2. La granja 2, estaba compuesta por 300 madres con un manejo similar al anterior pero sin vacunación contra erisipela. A ambas, con una periodicidad semanal, se les realizaba un control anatomopatológico de las causas de muerte en las distintas categorías. Las muestras procesadas correspondieron a cerdos con no más de 24 horas transcurridas luego de su muerte y mantenidos a temperatura ambiente.

Estudios bacteriológicos.

Las muestras procesadas fueron obtenidas de 5 cerdos de una edad promedio de 77 días y que a la necropsia presentaron en forma aislada o combinada, en los órganos que se citan algunos de los siguientes hallazgos anatomopatológicos macroscópicos: corazón: con endocarditis verrugosa en la válvula mitral, bazo: con esplenomegalia, riñón: con lesiones compatibles con nefritis y sinovial articular: con poliartritis no purulenta. Así mismo se obtuvieron las tonsilas de dichos cerdos presentaran o no lesiones macroscópicas.

Se sembraron trozos de los órganos con las lesiones indicadas, líquido articular y tonsilas en medio líquido ESB (6) constituido por caldo nutritivo adicionado de 5% de suero equino, 5% suero porcino, kanamicina 40 mg %, vancomicina 2,5 mg % y neomicina 5 mg % en duplicado. La

incubación se realizó a 37°C por 24-48 horas. Alícuotas de los cultivos líquidos con desarrollo se sembraron en agar MBA (6) compuesto por agar cerebro corazón con 5 % (v/v) de sangre equina, 5% suero equino y 0,04% azida de sodio, incubándose a 37° C por 48 horas en atmósfera con 5% de CO₂.

La caracterización morfológica microscópica se realizó por coloración de Gram. La evaluación de capacidad hemolítica se realizó en el medio MBA con 5% de sangre ovina. En cuanto a la caracterización bioquímica, se utilizaron las pruebas de catalasa, oxidasa, hidrólisis de arginina, producción de H₂S, indol, hidrólisis de la esculina, desarrollo en 8,5% de NaCl, licuación de la gelatina a 22°C y fermentación de hidratos de carbono (glucosa, lactosa, maltosa, fructosa, galactosa, trehalosa, arabinosa, sorbitol, manitol, inositol, rafinosa, ramnosa, dulcitol, xilosa y sacarosa). A todos los medios de cultivo se le adicionó suero equino al 1%. La caracterización serológica se realizó en la Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias de la Universidad de Chile, mediante la prueba de inmunodifusión doble en gel de agarosa con antígenos extractados de las cepas en estudio según Wood y Harrington (3) y 28 sueros hiperinmunes de cepas patrones de diferentes serotipos de *E. rhusiopathiae*, de acuerdo a Kucsera et al. (7) y Sanchez y col (8,9).

RESULTADOS.

La mortalidad de las categorías crecimiento y engorde, durante el período de estudio se mantuvo dentro de los valores aceptables.

Se obtuvieron 3 aislamientos de *E. rhusiopathiae*. Dos de ellos a partir de tonsilas, bazo, válvulas cardíacas y exudado articular de 2 cerdos. En otro animal sólo se aisló la bacteria de exudado articular.

En caldo se observó una ligera turbidez a las 24 horas así como un incipiente precipitado a la 48 horas. En agar MBA, se observaron colonias pequeñas, incoloras, alfa hemolíticas. La

J Copes, V Nieves, G Vigo, M Sánchez, G Bagnis, V Martín, H Sanguinetti, C Juan Perfumo.

morfología microscópica correspondió a bacilos Gram (+) de fácil decoloración, pequeños y delgados, en forma de letras, curvas y largos filamentos. La caracterización bioquímica correspondió a pruebas negativas de oxidasa, catalasa, esculina, indol y desarrollo en 8,5% de NaCl y positivas a glucosa, lactosa, maltosa, fructosa, galactosa, trehalosa, hidrólisis de arginina y la producción de sulfuro de hidrógeno. El desarrollo en gelatina a 22°C fue como hisopo limpia tubos.

La serotipificación de las tres cepas, correspondió al serotipo 10.

DISCUSIÓN.

El aislamiento de *E. rhusiopathiae* de las muestras estudiadas se dificultó, a pesar de utilizar medios selectivos con inhibidores, debido al crecimiento de otras bacterias que enmascararon la visualización de las pequeñas colonias o compitieron con ellas, en especial los géneros *Lactobacillus spp* y *Enterococcus spp* (10). Esta situación se debería a que las muestras se obtuvieron de cerdos muertos conservados a temperatura ambiente o bien a que estas bacterias cohabitan en las lesiones descritas, asociadas a *E. rhusiopathiae*.

Los cuadros clínicos agudos y subagudos de MR con manifestaciones cutáneas, son causados generalmente por los serotipos 1 y 2 (1). El serotipo 10 es raramente aislado de cerdos y no se lo ha asociado a cuadros clínicos de erisipela (11). Sin embargo ha sido aislado de órganos viscerales de cerdos muertos con lesiones de MR sistémicas y cutáneas en granjas con antecedentes de vacunación contra los serotipos 1 y 2 (12). Estudios experimentales demostraron que no existe inmunidad cruzada entre los serotipos 2 y 10 (13). Esto explicaría lo observado en la granja 1, en la que, a pesar de la aplicación de una vacuna combinada para el control de las infecciones respiratorias y que incluía *E. rhusiopathiae* serotipo 2, persistieron lesiones compatibles con MR y de

las cuales se aisló el serotipo 10. Un estudio reciente, realizado con vacunas comerciales compuestas con los serotipos 1 ó 2, aplicada adecuadamente, demostró protección cruzada contra el serotipo 10 (14).

En la República Argentina *E. rhusiopathiae* ha sido aislado de seres humanos y de distintas especies domésticas (5), sin embargo a pesar de ser el cerdo la especie más susceptible se carecía de información sobre su aislamiento, serotipos prevalentes y poder patógeno en esta especie. Estos aislamientos de cerdos con lesiones sistémicas (no cutáneas) compatibles de las del MR constituyen la primera información en el país y son una alerta para los productores y asesores veterinarios.

Así mismo se resalta que sólo el monitoreo anatomopatológico y bacteriológico rutinario y sistemático permitió caracterizar el cuadro de erisipela sistémica, sin manifestaciones cutáneas.

REFERENCIAS.

- 1.- Wood RL. Erysipelas. In: Ed. Straw, BE, D'Allaire S, Mengeling EL, Taylor DJ editors. Diseases of Swine 8th edition. Ames: Iowa State University Press; 1999. p. 419-30.
- 2.- Wood R, Harrington R. Serotypes of *Erysipelothrix rhusiopathiae* isolated from swine and from soil and manure of swine pens in the United States. Am J Vet Res 1978; 39:1833-40.
- 3.- Sanchez M. Erisipela: Estudio sobre su patogenia y características epidemiológicas en Chile. Monografías 1991. 13: 3-7.
- 4.- Skoknic A, Díaz I, Urcelay S, Duarte R, González O. Estudio de la erisipela en Chile III *Erysipelothrix rhusiopathiae* utilizando tonsilas para su diagnóstico. Arch Med Vet 1981. 13:13-6.
- 5.- De Diego A, Norrung V. *Erysipelothrix rhusiopathiae* en la República Argentina. I Aislamientos. Gaceta Veterinaria 1978; 40:771-4.
- 6.- Jones D. Genus *Erysipelothrix*. In Noel Krieg-John Holt, editor. Manual of Systematic Bacteriology. Genus *Listeria*. Baltimore: Williams & Wilkins; 1986. Vol 2. p. 1245-9.

Aislamiento de Erysipelothrix rhusiopathiae en cerdos en Argentina.

7.- Kucsera G. Proposal for standarization of the designations used for serotypes of *Erysipelothrix rhusiopathiae* (Migula). Buchanan. Int J Syst Bact 1973; 23:184-8.

8.- Sánchez M, González A, Meeulle-Stef V, Borie C. Serotipificación de cepas de *Erysipelothrix rhusiopathiae* provenientes de cerdos portadores sanos. Av Cs Vet 1979; 4:63-8.

9.- Sánchez M, Langerfeldt D, González A, Meulle-Stef V, Borie C. Serotipos de *Erysipelothrix rhusiopathiae* en cerdos con artritis en Chile. Av Cs Vet 1991; 6:162-5.

10.- Vigo G, Nieves V, Copes J, Lovera H, Sanguinetti C, Perfumo C. Aislamiento de *Enterococcus sp* y *Lactobacillus sp.* resistentes a la vancomicina en cerdos con lesiones compatibles con las del mal rojo. Memorias IV Congreso Nacional y Prelatino de Producción Porcina. IX Jornadas de Actualización Porcina, 19-21 de septiembre Paraná, Entre Ríos; 1996. Vol 1; p. S20.

11.- Wood RL. Swine erysipelas- a review of prevalence and research. JAVMA 1984; 184:944-9.

12.- Wood RL. Specificity in response of vaccinated swine and mice to challenge exposure with strains of *Erysipelothrix rhusiopathiae* of various serotypes. Am J Vet Res 1979; 40:795-801.

13.- Wood RL, Booth GD, Cutlip RC. Susceptibility of vaccinated wine and mice to generalized infection with specific serotypes of *Erysipelothrix rhusiopathiae*. Am J Vet Res 1981; 42:608-14.

14.- Redhead K, Pugh CA, Jensen NE, Houghton SB. Cross protection against *Erysipelothrix rhusiopathiae* serotype 10 induced by a serotype 1 and 2 vaccine. Vet Rec 1998; 142:612.