#### UNIVERSIDAD NACIONAL DE AGRICULTURA

## IDENTIFICACIÓN DE AGENTES PATÓGENOS CAUSANTES DE INFECCIONES VAGINALES EN CERDAS EN LA GRANJA PORCINA DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL DE AGRICULTURA

#### POR:

#### MANUEL OCTAVIO AMADOR FLORES

#### **TESIS**

### PRESENTADA A LA UNIVERSIDAD NACIONAL DE AGRICULTURA COMO REQUÍSITO PREVIO A LA OBTENCION DEL TITULO DE

#### INGENIERO AGRONOMO



CATACAMAS, OLANCHO

HONDURAS, C.A

DICIEMBRE, 2011

# IDENTIFICACIÓN DE AGENTES PATÓGENOS CAUSANTES DE INFECCIONES VAGINALES EN CERDAS EN LA GRANJA PORCINA DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL DE AGRICULTURA

Por:

#### MANUEL OCTAVIO AMADOR FLORES

#### LISANDRO ZELAYA, DMV

Asesor Principal

TESIS PRESENTADA A LA UNIVERSIDAD NACIONAL DE AGRICULTURA COMO REQUISITO PREVIO A LA OBTENCION DEL TITULO DE

INGENIERO AGRONOMO

**CATACAMAS** 

**OLANCHO** 

DICIEMBRE, 2011

#### **DEDICATORIA**

#### A Dios todopoderoso

A mi padre MANUEL ANTONIO AMADOR y a mi madre MARIA MARTHA FLORES.

A mi hermana ZICIE MAYTHE VASQUEZ y sobrina ELIETH ALESSANDRA GRADIZ.

A mi amor JENNIFER PAMELA TORRES e hija JENNIFER ESTER TORRES.

#### **AGRADECIMIENTO**

A Dios por regalarme inteligencia y fortaleza en todo momento, y por derramar muchas bendiciones sobre mi vida.

A mis padres por su constante apoyo para el logro de mis objetivos.

A mis asesores DMV. Lisandro Zelaya, DMV. Marlen Castro, M. A. E. Jhony Barahona, por su indispensable ayuda en la elaboración de este trabajo. Al M.Sc José Antonio Ramírez, también al M.Sc Leonel Alvarado por su valioso apoyo.

A la Universidad Nacional de Agricultura por brindarme la oportunidad de culminar mis estudios universitarios.

A mis amigos y compañeros Mario Modesto Santos, German Landa, Raúl Baquedano, Dorian Hernández, Wilder Martínez y Alex Chacón por su apoyo incondicional.

A todas aquellas personas que de alguna manera aportaron para lograr mi meta.

#### CONTENIDO

| DEDICATORIA   | ii   |
|---|------|
| AGRADECIMIENTO  | iii  |
| LISTA DE CUADROS  | vii  |
| LISTA DE ANEXOS   | viii |
| RESUMEN   | ix   |
| I INTRODUCCION  | 1    |
| II OBJETIVOS  | 2    |
| 2.1 General   | 2    |
| 2.2 Específicos   | 2    |
| III REVISION DE LITERATURA  | 3    |
| 3.1 Infecciones Vaginales y Descargas Vulvares                                | 3    |
| 3.2 Síndrome de Descargas Vulvares en Cerdas                                  | 4    |
| 3.3 Agentes Patológicos   | 5    |
| 3.4 Factores Predisponentes que Desencadenan la Presentación de la Enfermedad | 6    |
| 3.5 Infecciones por Bacterias   | 6    |
| 3.5.1 Diagnóstico Clínico   | 7    |
| 3.5.2 La Transmisión de la Infección  | 7    |
| 3.5.3 Resistencia   | 8    |
| 3.6 Infecciones por Virus   | 8    |
| Fuente (Jeanette L. Floss y Roderick C. Tubbs 2007).                          | 9    |
| 3.6.1 Signos Clínicos en Cerdas Reproductivas                                 | 10   |
| 3.6.2 Signos Clínicos en Lechones   | 10   |
| 3.6.3 Signos Clínicos en Verracos   | 10   |
| 3.6.4 Formas de Contagiarse   | 11   |
| 3.7 Contagio por Inseminación Artificial (bacterias, virus)                   | 12   |
| 3.8 Staphylococcus sp   | 13   |
| 3.9 Citrobacter freundii  | 13   |
| 3.10 Bioseguridad   | 13   |
| 3.10.1 Formas de Introducción de las Enfermedades a una Granja                | 14   |

| 3.10.2 Selección del Lugar para Establecimiento de una Granja Porcina       | 14 |
|---|----|
| 3.10.3 Control de Ingresos y Movimiento                                     | 14 |
| 3.10.4 Para Empleados y Personal de Servicio                                | 15 |
| 3.11 Efectos sobre la Producción  | 15 |
| 3.12 Análisis microbiológicos y antibiogramas prevención y/o tratamiento    | 15 |
| 3.12.1 Análisis microbiológico:   | 15 |
| 3.13 Medios de cultivo  | 16 |
| 3.14 Tipos de agares  | 17 |
| 3.14.1 Agar nutritivo   | 17 |
| 3.14.2 Agar Gelosa Sangre   | 18 |
| 3.14.3 Agar Mac Conkey  | 18 |
| 3.14.4 Agar Mueller Hinton  | 18 |
| 3.15 Pruebas Bioquímicas: Medios de cultivos                                | 18 |
| 3.16 Antibiótico  | 20 |
| 3.16.1 Mecanismo de acción y clasificación de los antibióticos              | 20 |
| 3.17 Antibiogramas  | 21 |
| IV METODOLOGIA  | 24 |
| 4.1 Descripción del Lugar de Investigación.                                 | 24 |
| 4.2 Características de la Granja  | 24 |
| 4.3 Materiales y Equipo   | 24 |
| 4.4 Manejo de la Investigación  | 25 |
| 4.5 Toma de Muestras  | 25 |
| 4.6 Protocolo para el análisis en laboratorio                               | 26 |
| 4.7 Variables Evaluadas   | 28 |
| 4.7.1 Identificación del Agente Etiológico                                  | 28 |
| 4.7.2 Sensibilidad y Resistencia del Agente Etiológico al Antibiótico       | 29 |
| 4.7.3 Bioseguridad  | 29 |
| V RESULTADOS Y DISCUSION  | 30 |
| 5.1 Identificación del Agente Etiológico                                    | 30 |
| 5.2 Sensibilidad y Resistencia de los agentes etiológico a los antibióticos | 31 |
| 5.3 Bioseguridad  | 35 |
| VI CONCLUSIONES   | 36 |
| VII RECOMENDACIONES   | 37 |

| VIII BIBLIOGRAFIA | 38 |
|-------------------|----|
| IX Anexos         | 41 |

#### LISTA DE CUADROS

| Cuadro 1. Gérmenes Aislados de Infecciones Genito-Urinarias                | 5                  |
|--|--------------------|
| Cuadro 2. Infecciones Causadas por Virus.                                  | 9                  |
| Cuadro 3. Identificacion de agentes etiológicos                            | 30                 |
| Cuadro 4. Sensibilidad y Resistencia de los agentes etiológicos gram + a   | a los antibióticos |
|  | 33                 |
| Cuadro 5.Sensibilidad y Resistencia de los agentes etilogicos gram – a los | antibioticos 34    |
| Cuadro 6. Staphylococcus sp;Error! Marca                                   | dor no definido    |
| Cuadro 7. Citrobacter freundii   | 32                 |

#### LISTA DE ANEXOS

| Anexo 1. Clasificacion de descargas vulvares fisiológicas y patologicas | 42 |
|---|----|
|---|----|

**Amador Flores, M.O.** 2011. Identificación de agentes patógenos causantes de infecciones vaginales en cerdas en la granja porcina de la Universidad Nacional de Agricultura. Tesis Ing. Agr. Universidad Nacional de Agricultura, Catacamas, Olancho, Honduras, C.A.

#### **RESUMEN**

El trabajo se realizó en el Centro de Desarrollo de Producción Porcina de la Universidad Nacional de Agricultura ubicado en el municipio de Catacamas y en el laboratorio clínico de Olancho ubicado en el municipio de Juticalpa, del departamento de Olancho, en un tiempo comprendido entre el 21 de junio hasta el 25 de septiembre del año 2011. Durante el trabajo se observaron las cerdas para identificar los signos característicos de las infecciones, y realizar posteriormente la toma de muestras y llevarlas al laboratorio, el total de muestras recolectadas fue de 28 cerdas, y mediante el uso de técnicas de laboratorio. El resultado demostró que las bacterias Staphylococcus sp (22.5%) y Citrobacter freundii (22.5%) son los géneros que presentaron mayor incidencia siendo estas las responsables de las infecciones vaginales en la granja y las bacterias Escherichia coli (3.2%) y Enterobacter cloaceae (3.2%) presentaron la menor incidencia. Las especies Staphylococcus epidermis y Streptococcus epidermis fueron las más sensibles a los antibióticos evaluados y el género Proteus mirabilis es la bacteria que presento la mayor resistencia a los antibióticos evaluados para el control de las infecciones vaginales en cerdas.

#### **I INTRODUCCION**

Las infecciones vaginales ó descargas vulvares constituyen una patología compleja y multifactorial, con una repercusión variable en las explotaciones porcinas. En todas las granjas se observan esporádicamente este tipo de descargas, ya que un porcentaje de hembras afectadas de entre 1% a 2% se considera bajo por lo tanto los productores no prestan una especial atención. Sin embargo, en algunas explotaciones pueden llegar a constituir un problema importante cuando afectan a un número significativo de reproductoras, ya que tienen un efecto marcado sobre la eficacia de la reproducción (Cervantes A. Citado por Vallecillo M. 2010).

Las descargas vulvares de las cerdas pueden producirse a partir de varios órganos del aparato genito-urinario, estas pueden provenir de vagina, cérvix y útero o bien desde la vejiga o riñones y pueden tener diferentes presentaciones. Es importante aclarar que no todas las descargas vulvares son descriptivas de una patología (Cervantes A. 2011).

Los problemas más importantes se producen en las cerdas gestantes y en los lechones lactantes; estas incidencias ocasionan pérdidas económicas al productor ya que si no son tratadas a tiempo existe un alto porcentaje de animales muertos por infecciones, controlando las infecciones logramos disminuir la tasa de mortalidad en la granja.

El presente trabajo tiene como objetivo conocer la incidencia de estas infecciones en las cerdas de las instalaciones de la granja porcina de la Universidad Nacional de Agricultura con la ayuda del laboratorio clínico de Olancho donde se llevaron muestras para su análisis de los casos de infecciones vaginales en la granja, para poder realizar programas sanitarios, prácticas de manejo con la finalidad de prevenir estas infecciones y controlar en parte los problemas de infertilidad en las cerdas.

#### **II OBJETIVOS**

#### 2.1 General

➤ Identificar los agentes patológicos causantes de las infecciones vaginales y evaluar los controles para los diferentes tipos de agentes en cerdas reproductoras de la Universidad Nacional de Agricultura.

#### 2.2 Específicos

- ➤ Identificar los agentes patológicos responsables de las infecciones vaginales en cerdas en la granja de la Universidad Nacional de Agricultura, mediante un antibiograma.
- > Evaluar la sensibilidad del agente patológico a los diferentes tipos de Antibióticos.
- Comparar diferentes Antibióticos para el control de las infecciones vaginales.
- ➤ Elaborar un programa de bioseguridad encaminado a controlar los agentes patológicos que provocan las infecciones vaginales.

#### III REVISION DE LITERATURA

#### 3.1 Infecciones Vaginales y Descargas Vulvares

Una infección se refiere a la colonización que especies exteriores realizan en un organismo en términos médicos se denomina hospedador, siendo estas absolutamente perjudiciales para el desarrollo y la supervivencia del organismo en mención. La gravedad de la infección varía de acuerdo a la agresividad que ostente el microorganismo intruso y el estado inmunológico del huésped, aunque también se estima que el nivel de agresión de la especie exterior que invade sea tan importante que ni siquiera un buen sistema inmunológico pueda combatirlo, lo cual es uno de los principales problemas en las explotaciones porcinas ya que causan un alto índice de abortos, repeticiones de celos y en descuidos excesivos la muerte a las hembras infectadas (Cervantes 2005 Citado por Vallecillo M. 2010).

El primer problema asociado a esta patología es su identificación ya que una cerda puede presentar descargas de distinto tipo a lo largo de su ciclo productivo, calificándose algunas de ellas como fisiológicas, mientras que otras se consideran patológicas. Asimismo, una descarga patológica puede tener distintas etiologías por lo que su gravedad, su tratamiento y sus repercusiones serán diferentes. Pero, no siempre resulta fácil diferenciar unas causas de otras y poner en perspectiva las medidas que se deben adoptar (Cita Prieto Suarez. 2010).

#### 3.2 Síndrome de Descargas Vulvares en Cerdas

Es común encontrar descargas normales postparto, estas ocurren como parte de la limpieza uterina y son llamadas loquios. Este tipo de descargas se caracterizan por ir de más a menos es decir que se van disminuyendo en forma paulatina hasta desaparecer; es importante recordar que en la mayoría de las granjas las condiciones medio ambientales relacionadas con la higiene son limitadas y en algunos casos nulas por lo que las bacterias del medio ambiente pueden introducirse al útero y establecer una infección y esta descarga fisiológicas se vuelve entonces una descarga patológicas.

Estas descargas patológicas se caracterizan por presentar olores fétidos, colores variados, pueden ir acompañados por una hipertermia, mastitis y agalactia y se suelen presentar 3 a 4 días postparto. Es importante considerar que si se establece una infección en la maternidad esta se va a manifestar en el siguiente celo, cuando la hembra haya sido destetada (Tubbs y Floss. 1995).

Las descargas vulvares que significan un problema de baja fertilidad, aumento de repeticiones y que son consideradas patológicas se presentan entre los días 12 -25 postmonta natural o post inseminación artificial. Este tipo de descargas ocurren usualmente durante el pro-estro o el estro cuando el cérvix esta agrandado o dilatado o el útero esta contraído por la presencia de estrógenos.

En estudios de varios hatos que han presentado problemas, la incidencia de hembras afectadas puede variar de un 5-50% y la descarga generalmente es observada pocos días antes del retorno al estro (Muirhead. 1982)

Este síndrome puede ser causado por infecciones ascendentes de bacterias patógenas facultativas. (Meredith. 1989). Es generalmente aceptado que estas bacterias causan endometritis bajo ciertas condiciones y bajan las defensas uterinas. En los estudios realizados se diagnosticó úteros provenientes de granjas con problemas de baja fertilidad y

descarga vaginal patológica, estos estaban significativamente más infectados que los úteros provenientes de granjas sin problemas. En la mayoría de los aislamientos se encontró *E coli, Staphylococcus spp* y *Streptococcus suis* (De Winter. 1995).

#### 3.3 Agentes Patológicos

Existen varios factores que desencadenan la presentación de la enfermedad, la infección causada por agentes bacterianos y otros diversos se mencionan en el Cuadro 1.

Cuadro 1. Gérmenes Aislados de Infecciones Genito-Urinarias

| Gram +            | Gram -                | Otros       |
|-------------------|-----------------------|-------------|
| Streptococcus spp | E. Coli               | PRRS        |
| S. epidermis      | Klepsiella pneumoniae | Micotoxinas |
| C. pyogenes       | P.mirabilis           | Parvovirus  |
| C.perfingers      | Leptospira spp        |             |
| Act.pyogenes      | Brucella suis         |             |
| Enf. Faecalis     | Achromobacter         |             |
|                   | xylosoxidans          |             |
| Eubacterium suis  |                       |             |

(Cervantes A. 2011)

En la antigüedad la bacteria que más se había asociado a brotes de cistitis, pielonefritis y endometritis es Eubacterium suis. La describe como uno de los principales problemas de infertilidad de 1974-1994. Menciona que las hembras en slats o confinadas se vuelven letárgicas, solo se paran a comer y beber agua en una ocasión. Las hembras defecan y orinan estando acostadas, la orina se encuentra almacenada por mucho tiempo en la vejiga, el agua que beben es muy poca para sus necesidades y esto les produce una cistitis, muchas veces se produce nefritis, pero la mayoría de los casos se produce una infección ascendente al aparato reproductor (Alexander. 1995).

#### 3.4 Factores Predisponentes que Desencadenan la Presentación de la Enfermedad

- Lesiones en la monta natural o inseminación artificial.
- > Inseminación cuando las hembras no están en calor.
- Exceso de servicios cuando las hembras no están en calor o estro.
- En algunos casos 3 servicios pueden ser causantes de la enfermedad.
- ➤ Introducir cualquier cuerpo extraño después de la monta o el parto.
- Pipetas, catéteres, lavados vaginales, etc.
- > Verracos viejos utilizados en monta natural.
- Distocia.
- > Braceado de hembras durante el parto.
- Retención placentaria o de fetos.
- Ausencia de lactancia (provoca retraso en la involución uterina).
- Lactaciones muy cortas 12 a 18 días las que no permiten una involución uterina correcta.
- Canal cervical muy abierto (hembras viejas de más de 6 partos).
- ➤ Infecciones virales, como Predisponentes de una infección bacteriana.
- Reflujo de orina, sobre todo en granjas con malas instalaciones y con jaulas en gestación.
- > pH de la orina en hembras recién destetadas (alcalino) (Cervantes M. 2011).

#### 3.5 Infecciones por Bacterias

Las infecciones causadas por *Streptococcus*. *suis* y *Haemophilus parasuis* constituyen los problemas bacteriológicos más importantes de los últimos 15 años en la producción porcina intensiva.

#### 3.5.1 Diagnóstico Clínico

El signo clínico más precoz y constante de la infección es la fiebre de 40-42°C. El periodo de incubación puede ser corto (24h). En consecuencia, en brotes muy agudos el primer signo puede ser la aparición de 2 o 3 cerdos muertos. En casos de meningitis, los signos clínicos van desde una leve incoordinación, cambio postural y ataxia hasta decúbito lateral con movimientos de pedaleo, convulsiones, opistodomos y nistagmos horizontal. Es normal observar secuelas como ceguera o posturas anormales de la cabeza (que a veces se confunde con otitis) en los animales que se han recuperado de la enfermedad nerviosa. También puede observarse septicemias: orejas y partes distales de las extremidades azules (cianosis). Cuando el curso de la enfermedad no es tan rápido, se observan rengueras y entumecimiento de las articulaciones (artritis) (Gottschalk M. Acta Scientiae Veterinaria. 37(Supl 1): S73-S79, 2009).

La edad de aparición de la enfermedad y los signos clínicos varían según la explotación pero son de algún modo específicos de cada una de ellas. La enfermedad aguda asociada a S. suis aparece inicialmente en cerdos destetados aparentemente normales, sin que existan signos Predisponentes particulares. (Gottschalk M. Acta Scientiae Veterinariae. 37(Supl 1): S73-S79, 2009.).

#### 3.5.2 La Transmisión de la Infección

Como fue mencionado anteriormente, el periodo más crítico en relación con la expresión clínica se sitúa entre las 5 y las 10 semanas de edad, a pesar que ciertas granjas tienen su propio perfil de edad. La transmisión horizontal puede producirse más frecuentemente al inicio del post-destete, cuando los cerdos compiten unos contra otros, y se produce una mezcla de saliva infectada y sangre de las heridas por mordeduras (Gottschalk M. 2009).

Las madres infectan los lechones durante el parto por vía vaginal y/o enseguida luego del nacimiento, por vía respiratoria. Estudios que se efectuaron en nuestro laboratorio con S.

suis indican que los animales comúnmente se infectan durante el parto (mecánicamente) y nacen infectados. En el destete y en el engorde, la transmisión se realiza principalmente por vía respiratoria (Gottschalk M. 2009).

#### 3.5.3 Resistencia

Se ha demostrado que Streptococcus suis puede sobrevivir en agua a 4°C durante cerca de 2 semanas, y con temperaturas de 25°C puede sobrevivir durante 8 días en la materia fecal. En los casos de Haemophilus *parasuis*, en general son los lechones en mejor estado físico que son afectados violentamente con la enfermedad de Glässer. Para confirmar el diagnóstico son necesarios una exploración minuciosa y un cultivo. La expresión de las infecciones por *S. suis* en lechones lactantes puede estar influida por prácticas de manejo que no se efectúan en las condiciones higiénicas correctas (corte de la cola, corte de colmillos, desinfección de ombligos) o por instalaciones que pueden causar abrasiones o lesiones cutáneas; en este caso la aparición de artritis es muy frecuente (Gottschalk M.2009).

#### 3.6 Infecciones por Virus

El virus puede difundirse de los pulmones al resto del cuerpo; en la sangre, solamente en la asociación con los leucocitos o los monocitos que entonces emigran a diversos tejidos finos para convertirse en macrófagos tisulares. En el Cuadro 2 se presentan las es difusiones de PRRS puede alcanzar el aparato reproductor, conduciendo al desarrollo de las muestras clínicas asociadas a la reproducción y que definitivamente alteran la fertilidad de los animales (Done, 1995).

Cuadro 2. Infecciones Causadas por Virus.

| Nombre                      | Identificación/Características | Sintomatología         | Tratamiento       |
|-----------------------------|--------------------------------|------------------------|-------------------|
| Parvovirus porcino          | En raras veces producen        | Lechones nacidos       | No hay            |
| ·                           | enfermedades clínicas se       | muertos, muertos       | tratamiento       |
|                             | asocia con enfermedades        | al nacer, fetos        | contra            |
|                             | del sistema nervioso central,  | momificados,           | infertilidad pero |
|                             | diarreas y neumonía.           | lechones débiles e     | animales          |
|                             |                                | infertilidad,          | infectados        |
|                             |                                | abortos muy raras      | naturalmente      |
|                             |                                | veces.                 | son inmunes de    |
|                             |                                |                        | por vida.         |
|                             |                                |                        | Aplicarle a las   |
|                             |                                |                        | cerdas restos     |
|                             |                                |                        | fecales de cerdas |
|                             |                                |                        | viejas por lo     |
|                             |                                |                        | menos un mes      |
|                             |                                |                        | antes del         |
|                             |                                |                        | servicio.         |
| Seudorabia                  | Antes de los abortos se        | Abortos, muerte        | Existen vacunas,  |
|                             | producen fuertes fiebres y     | en lechones            | no previene la    |
|                             | enfermedades respiratorias.    | recién nacidos o       | enfermedad        |
|                             |                                | recién destetados      | clínica pero      |
|                             |                                | y un aumento de        | disminuye         |
|                             |                                | susceptibilidad a      | severidad.        |
|                             |                                | enfermedades           |                   |
|                             |                                | respiratorias en       |                   |
|                             |                                | cerdos en              |                   |
| ccppp/c/                    |                                | engorde.               |                   |
| SSRRP(Síndrome              | Neumonía en cerdos de          | Abortos, aumento       |                   |
| Respiratorio                | cualquier edad en el rebaño.   | en la incidencia       |                   |
| Reproductivo                | Las cerdas próximas al parto   | de nacidos             |                   |
| Porcino)/SRIP (<br>Síndrome | presentan pérdida de           | muertos y momificados. |                   |
| Respiratorio de             | apetito y fiebre.              | monnicauos.            |                   |
| Infertilidad                |                                |                        |                   |
| Porcina)                    |                                |                        |                   |
| ruiciliaj                   |                                |                        |                   |
|                             |                                |                        |                   |

Fuente (Jeanette L. Floss y Roderick C. Tubbs 2007).

#### 3.6.1 Signos Clínicos en Cerdas Reproductivas

Las cerdas pueden presentar signos clínicos leves o severos, los cuales directamente tendrán una repercusión económica importante en los parámetros reproductivos de la granja, lo que suele observarse, es anorexia, somnolencia y fiebre. Ocasionalmente muestran cianosis en orejas, vulva y cola (Done 1995). Los problemas reproductivos, es el signo; manifestándose en abortos, mortinatos y un aumento en el número de lechones débiles. Las cerdas infectadas en el segundo tercio de la gestación, generalmente presentan abortos, momias e infertilidad generalizada; que pueden durar de 2 a 3 meses (Albina *et al* 1992), afectando algunos parámetros como porcentaje de fecundación, número de lechones vivos al nacimiento y mortalidad antes del destete (Méndez 1996).

#### 3.6.2 Signos Clínicos en Lechones

En los lechones, se observan algunas características como capa del pelo áspera, baja tasa de crecimiento, conjuntivitis, edema peri orbital y temblores de los músculos; en ocasiones, cuando están parados, se observan como estatuas o extienden las piernas e incluso muestran parálisis posterior, antes del inicio de la debilidad y de la falta total de coordinación muscular.

#### 3.6.3 Signos Clínicos en Verracos

En los verracos, se observa anorexia, somnolencia, fiebre (Done 1995), así como bajo deseo sexual, sobre, pobre todo la calidad seminal, expresada en volumen, motilidad y concentración espermática por debajo de los estándares y en aumento de anormalidades de los espermatozoides; lo cual, definitivamente, perjudican al potencial reproductivo de los machos (Lager et al 1992).

#### 3.6.4 Formas de Contagiarse

El virus, se difunde rápidamente dentro de la granja, por contacto directo (Pool et al., 1991) o por aerosoles (Terpstra et al., 1991). En el contagio por aerosoles, es importante la capacidad de supervivencia del virus en el medio ambiente; sin embargo, su supervivencia no es muy grande, ya que es un virus con envoltura; aunque puede sobrevivir en tejidos congelados, durante largos periodos e incluso años. Los casos mejor documentados de transmisión de la enfermedad son los debidos al movimiento de animales enfermos.

Estos animales pueden transmitir la enfermedad por contacto hasta 14 semanas después de la inoculación experimental. El virus se puede eliminar por distintas vías; siendo posible aislarlo de las fosas nasales, saliva, orina, secreciones prepuciales y heces de animales infectados; aunque el aislamiento a partir de las heces, no siempre es posible (Prieto y Castro, 1998a).

Además, existen evidencias epidemiológicas y experimentales, que el virus se puede diseminarse por inseminación artificial, cuando se usa semen obtenido en la fase aguda de la infección; ya que es posible aislar el virus del semen de verracos infectados experimentalmente (Swenson et al., 1994; Prieto et al., 1996b; Prieto et. al., 1997).

Otra forma importante de transmisión, es la vertical, en donde el virus es capaz de atravesar la barrera placentaria e infectar a los fetos en el útero, lo que da lugar a la aparición de lechones virémicos y presentar anticuerpos frente al virus o ambas cosas, al nacimiento.

#### 3.7 Contagio por Inseminación Artificial (bacterias, virus)

Con el uso de Inseminación Artificial (IA), estos problemas se han agravado ya que si el semen de un verraco está contaminado, (a pesar de que los diluentes contienen antibióticos estos no son suficientes para detener una contaminación masiva del eyaculado) al usar un eyaculado en varias hembras los problemas se pueden diseminar más rápido que cuando solo se usaba la monta natural. Cuando las descargas vulvares son originadas en el tracto genital (vulvitis, vaginitis y/o metritis) normalmente la infección ocurre vía ascendente adquiriendo gran cantidad de bacterias del suelo sucio (Taylor. 1999).

También el virus se difunde por medio del semen, debido al auge de la inseminación artificial. El virus del PRRS ha sido identificado en el semen de verraco, se disemina en tejidos finos completos, incluyendo el tracto reproductivo, 21 días posteriores a la infección. El virus puede entrar en el semen por los tejidos finos epididimales y las fuentes del virus en semen son monocitos infectados por el virus. Los monocitos infectados en semen pueden resultar de la infección de los macrófagos locales del tejido fino o se pueden originar de la circulación de monocitos o de macrófagos infectados por el virus (Bouma, 2000). Efecto en el semen en verracos, se ha podido demostrar que el virus puede replicarse en las células epiteliales de los túbulos seminíferos; principalmente en espermatozoides y espermatofitos, lo cual se ha observado en aislamientos en Estados Unidos, en el semen 7 días post-infección.

El virus del PRRS puede ser secretado en el semen por 50 días post infección. Las diferencias que se observan en la calidad del semen colectado de verracos después de la infección experimental, es un deterioro significante en la motilidad espermática y en la normalidad de los acrosomas (Bouma, 2000).

La inseminación de cerdas con semen infectado con virus del PRRS, provoca la infección en las cerdas, pero no afecta la fertilización de los ovocitos y el desarrollo embrionario (Bouma, 2000).

#### 3.8 Staphylococcus sp

Los Staphylococcus patógenos son de color blanco porcelana o amarillo anaranjado cuando se desarrollan en medio sólidos, estas cepas de estafilococos son Gram positiva a la catalasa y puede crecer en presencia de una alta concentración de cloruro de sodio al 7.5 a 10% (Burrows 1974).

En general los géneros Staphylococcus son sensibles a la acción de ciertos antimicrobianos como es el caso de la Norfloxacina, Cloranfenicol, Gentamicina, la resistencia adquirida por la bacteria se debe al uso indiscriminado que se le está dando a estos productos haciendo difícil su control, el cual se encuentra en el medio ambiente.

#### 3.9 Citrobacter freundii

Son bacterias móviles, fermentadores variables de la lactosa, algunos son citrato positivo y otros negativos, algunas especies tienen antígenos somáticos O, flagelar H y de superficie K, lo que hace que den reacciones cruzadas con otras Enterobacteriaceae.

El género Citrobacter es un grupo de bacilos Gram negativos aeróbicos que se encuentran frecuentemente en el agua, suelo, comida y el tracto intestinal de animales y humanos como flora saprofita.

#### 3.10 Bioseguridad

La bioseguridad es un concepto que literalmente significa "Seguridad de la Vida" y comprende una serie de medidas y procedimientos técnicos y normas de manejo aplicadas de una manera lógica, encaminadas a prevenir la entrada y/o salida o transmisión de agentes infecto-contagiosos en la unidad de producción pecuaria y cuyo principal objetivo es proteger la salud de los animales. Podría resumirse en el cuidado de la salud aplicando medidas preventivas (Zuluaga C. DMV).

#### 3.10.1 Formas de Introducción de las Enfermedades a una Granja.

Las causas de las enfermedades transmisibles son bacterias, hongos y virus, los cuales pueden ser introducidos a una granja a través de diferentes formas:

- Personas, como principal fuente de introducción de enfermedades.
- ➤ Ropa, zapatos, batas, overoles, instrumental, equipo, material, etc.
- ➤ Vehículos de cualquier tipo.
- Material biológico, cadáveres, desechos.
- > Fauna silvestre.
- Animales de compañía y de ornato.
- Fauna nociva: roedores, insectos, depredadores, etc.
- ➤ Condiciones ambientales, en particular el viento.
- ➤ Introducción de insumos y materiales a la granja (Zuluaga C. DMV).

#### 3.10.2 Selección del Lugar para Establecimiento de una Granja Porcina.

Una unidad de producción porcina debe estar distante de cualquier otro cerdo de por lo menos 1.5 km., además debe estar separada de los vecinos más cercanos por la misma distancia, de manera que se evite cualquier factor que perjudique la salud humana o animal. (Zuluaga C. DMV) La facilidad de manejo de materiales, animales, alimentos, agua, aire y estiércol (Zuluaga C. DMV)

#### 3.10.3 Control de Ingresos y Movimiento

Tiene como finalidad reducir al mínimo indispensable el ingreso, de personas y vehículos, ya que todo lo que entre a la unidad tiene la posibilidad de introducir problemas sanitarios. Con el objeto de reducir el riesgo, todo estará sujeto a control (Zuluaga C. DMV).

#### 3.10.4 Para Empleados y Personal de Servicio

Todos los empleados deberán bañarse siempre que entren a la granja y cambiarse de ropa, misma que se utilizará exclusivamente en la unidad. Cualquier persona que visite otra granja porcina no deberá entrar a la unidad por un período no menor de 48 horas (Zuluaga C. DMV).

#### 3.11 Efectos sobre la Producción

De Winter (5 6 16) menciona que el número de lechones destetados por hembra al año puede reducirse en promedio de dos a cuatro animales pero en hatos muy afectados llega a bajar hasta siete. La mayoría de los autores coinciden en que es más frecuente la presentación del problema en hembras viejas o en granjas que no han cubierto sus reemplazos a tiempo y han dejado envejecer el hato.

También es importante considerar el número de montas, granjas con 3 o más IA han demostrado ser más susceptibles a este problema, lo mismo ha sucedido con montas dadas a hembras de celos tardíos, ya que la última monta es muy probable que se realice cuando la hembra dejado de estar en estro y los estrógenos han dejado de estar presentes. Es vital que se revisen los protocolos de IA en caso de que este sea un problema de la granja. La incidencia de las descargas puede variar de un 5-50% del hato, en un estudio de 13 hatos afectados se observó que los porcentajes de fertilidad pueden bajar hasta un 20 % (De Winter 16).

#### 3.12 Análisis microbiológicos y antibiogramas prevención y/o tratamiento.

#### 3.12.1 Análisis microbiológico:

La identificación bacteriana preliminar puede efectuarse mediante la observación de características morfológicas celulares y coloniales propias de los géneros de interés. Sin

embargo la caracterización final de un aislamiento bacteriano desconocido requiere para su identificación a nivel de género y especie del estudio de ciertos sistemas enzimáticos que son únicos para cada especie y sirven como marcadores de identificación. En el laboratorio estos sistemas se detectan inoculando una pequeña porción de una colonia bacteriana bien aislada en una serie de medios de cultivo (diferenciales), que contienen sustratos específicos e indicadores químicos para detectar cambios de pH o la presencia de subproductos específicos (Madrid & Arias 2003).

#### 3.13 Medios de cultivo

Uno de los sistemas más importantes para la identificación de microorganismos es observar su crecimiento en sustancias alimenticias artificiales preparadas en el laboratorio.

El material alimenticio en el que crecen los microorganismos es el Medio de Cultivo y el crecimiento de los microorganismos es el Cultivo.

Para que las bacterias crezcan adecuadamente en un medio de cultivo artificial debe reunir una serie de condiciones como son: temperatura, grado de humedad y presión de oxígeno adecuado, así como un grado correcto de acidez o alcalinidad. Medios sintéticos o químicamente definidos. Llevan fuente de carbono, fuente de nitrógeno, sales que suplan iones (P, K, Mg, Fe, Ca), otros elementos como son estimuladores del crecimiento pero siempre a concentraciones conocidas.

Medios complejos o de composición indefinida: Estos medios llevan ingredientes como extracto de levadura, peptona, infusión de cerebro, extracto de carne etc. Que contienen nutrientes en abundancia pero sin saber con exactitud la composición cualitativa ni cuantitativa de estos nutrientes.

Medios de enriquecimiento: Son medios complejos (normalmente) con aditivos adicionales para favorecer el crecimiento de determinados microorganismos (particularmente

heterótrofos exigentes). Ejemplo: adicción de sangre, suero extractos de tejidos de animales y plantas.

Medios selectivos: Son aquellos que favorecen por su diseño el crecimiento específico de un microorganismo particular (o grupo de microorganismo). Es de gran utilidad para el aislamiento de microorganismos a partir de una población microbiana mixta. Ejemplo: CO 2 como fuente de carbono es selectivo para autótrofos; adicionando cristal violeta se inhibe crecimiento de los Gram (+); Utilizando maltosa como única fuente de carbono sólo crecerán los que usen maltosa.

En medios diferenciales son aquellos destinados a facilitar discriminación de microorganismos de una mezcla por sus propiedades diferenciales decrecimiento en dichos medios.

Ejemplo: Agar sangre diferencia hemolítico de no hemolíticos, Mac Conkey diferencia lactosa (+) de lactosa (-).

Medios de mantenimiento: Suelen ser distintos al decrecimiento óptimo ya que el crecimiento rápido y prolífico suele ocasionar la muerte rápida de las células. Ejemplo: al añadir glucosa y utilizarla los microorganismos producen ácidos, acidificándose el medio por lo que es preferible no utilizar glucosa en los medios de mantenimiento.

#### 3.14 Tipos de agares

#### 3.14.1 Agar nutritivo

Medio de cultivo utilizado para propósitos generales, para el aislamiento de microorganismos poco exigentes en lo que se refiere a requerimientos nutritivos. Su uso esta descrito en muchos procedimientos para el análisis de alimentos, aguas, y otros mariales de importancia sanitaria.

3.14.2 Agar Gelosa Sangre

Medio para propósitos generales, para el aislamiento y cultivo de numerosos

microorganismos. Con la adición de sangre, el medio es útil tanto para el aislamiento y

cultivo de microorganismos aerobios y anaerobios nutricionalmente exigentes a partir de

una gran variedad de muestras, como para la observación de reacciones de hemolisis.

3.14.3 Agar Mac Conkey

Este medio se utiliza para el aislamiento de bacilos Gran negativos de fácil desarrollo,

aerobios y anaerobios facultativos. Permite diferenciar bacterias que utilizan o no, lactosa

en muestras clínicas, de agua y alimentos. Todas las especies de la familia

Enterobacteriaceae desarrollan en el mismo.

3.14.4 Agar Mueller Hinton

Este medio de cultivo ha sido recomendado universalmente para la prueba de sensibilidad a

los antimicrobianos. Además es útil con el agregado de sangre para el cultivo y aislamiento

de microorganismos nutricionalmente exigentes.

3.15 Pruebas Bioquímicas: Medios de cultivos

Con frecuencia, la identidad de una especie requiere que se conozca de manera detallada su

actividad bioquímica, por que otras características no suficientemente distintivas o

diferenciales.

Medio Kliger: el cual se usa para la diferenciación de Enterobacterias en base a la

fermentación de glucosa y lactosa, y a la producción de ácido Sulfhídrico.

18

Medio MIO: Medio usado para la identificación de Enterobacterias en base a su movilidad y producción de INDOL.

Medio Lisina: Medio utilizado para identificar microorganismos como salmonella y *E. coli* basada en la descarboxilacion/desanimación de la lisina y en la producción de ácido sulfhídrico, lo cual por ser una amina eleva el pH del medio, ocasionado el viraje del indicador bromocresol purpura, a purpura, gris, o azulado.

Medio Urea: La hidrólisis de la urea se debe a la acción de la enzima ureasa producida por algunas bacterias. Esta enzima actúa hidrolizando la urea dando por resultado la formación de amoniaco y dióxido de carbono. El amoniaco reacciona con el medio y forma hidróxido de amoniaco el cual alcaliniza el medio. Este efecto se pone de manifiesto, vista que el medio del cultivo contiene como indicador de pH el rojo de fenol, que en medio alcalino se vuelve rosado, considerándose en este caso la prueba positiva.

Medio Fenilalina: Algunos microorganismos tienen la enzima fenilatina desaminasa que actúa sobre la Fenilalina causando desafinación que origina al ácido fenilpiruvico, producto que se detecta agregando al crecimiento bacteriano cloruro férrico al 10% con lo que se forma un complejo color verde oscuro en un tiempo máximo de 5 minutos. Considerando este caso la prueba positiva.

Medio Citrato: El medio de Agar Citrato de Simmons contiene citrato y azul de bromotimol como indicador de pH. Únicamente las bacterias capaces de metabolizar el citrato creer en este medio. Una prueba positiva está representada por la aparición de color azul oscuro en 24-48 horas, lo que indica que el microorganismo en estudio ha sido capaz de utilizar el amoniaco, llevando a la alcalinización del medio a partir de la conversión del amoniaco que al unirse con el agua del medio produce hidróxido de amoniaco. La prueba también puede ser positiva en ausencia de color azul si hay crecimiento de colonias visibles a lo largo de la línea de inoculación.

3.16 Antibiótico

Los antibióticos, o agentes antimicrobianos, son sustancias (obtenidas de bacterias u

hongos, o bien obtenidas de síntesis química) que se emplean en el tratamiento de

infecciones.

La elección de uno u otro antibiótico en el tratamiento de una infección depende del

microorganismo (obtenido por cultivo o supuesto por la experiencia), de la sensibilidad del

microorganismo (obtenida por un antibiograma o supuesta por la experiencia), la gravedad

de la enfermedad, la toxicidad, los antecedentes de alergia del paciente y el costo. En

infecciones graves puede ser necesario combinar varios antibióticos.

La vía de administración puede ser oral (cápsulas, sobres), tópica (colorios, gotas, etc.) o

inyectable (intramuscular o intravenosa). Las infecciones graves suelen requerir la vía

intravenosa.

3.16.1 Mecanismo de acción y clasificación de los antibióticos

Los antibióticos actúan a través de 2 mecanismo principales: Matando los microorganismos

existentes (acción bactericida), e impidiendo su reproducción (acción bacteriostática). Su

mecanismo de acción predominante los divide en 2 grandes grupos:

Bactericidas Bacteriostáticos

Beta-lactámicos (Penicilinas y cefalosporinas) Macrólidos (Grupo eritromicina)

Glicopéptidos (Vancomicina, teicoplanina) Tetraciclinas

Amino glucósidos (Grupo estreptomicina) Cloramfenicol

Quinolonas (Grupo norfloxacino) Clindamicina, Lincomicina

Polimixinas Sulfamidas

20

#### 3.17 Antibiogramas

El antibiograma es esencialmente una prueba cualitativa y por ello debe tenerse especial cuidado en la interpretación de los resultados. La prueba es usada para identificar la sensibilidad de las bacterias a los antibióticos. Hay que tener en consideración que la respuesta real al tratamiento, dependerá no solo de la sensibilidad de la bacteria a la droga seleccionada, sino que también del estado fisiológico del animal, localización de la infección y por tanto del contrato entre la droga y los microorganismos (Ruiz 1980, citado por Rodríguez 2000).

Antes de inocular debe hacerse una tinción de Gram, para seleccionar los antibióticos que se usaran en la prueba. La transferencia del inoculo siempre se hace por medio de una pipeta Pasteur o con una torunda de algodón estéril de la cual se exprime el exceso de líquido. Deberá incluirse un disco para todo el agente terapéutico o droga que se está utilizando en un tratamiento. Y se colocaran sobre el agar, equidistantes entre sí, empleando no más de ocho discos por placa. Si se tiene disco que contienen la misma droga, pero diferente cas comercial, se recomienda utilizarla juntos (Ruiz 1980, citado por Rodríguez 2000).

En el caso de colonias aisladas de placas de agar, se prefiere colocar varias de ellas en medio líquido para vehiculizarlas (caldo suero o caldo nutritivo), el cual se incuba a 37°C por 2 a 4 horas. La concentración de esta dilución es correlativa con el nefelómetro de Mcfarlad. Al cabo de ese tiempo, se inocula el agar en la forma descrita y se distribuye en material por toda la caja con un asa de 4 mm o una pipeta Pasteur doblada en la punta. Las placas se incuban a una temperatura de 37°C hasta que se haya tenido un crecimiento satisfactorio. La mayoría de las bacterias producen un crecimiento visible a las 12 horas pero el tiempo promedio para interpretación debe ser a las 18 horas, y no más tarde, ya que las lecturas pueden dar resultados errados (Ruiz 1980, citado por Rodríguez 2000).

La presencia de una zona definida de inhibición de crecimiento alrededor del disco se considera como de cierto grado de sensibilidad y el microorganismo es registrado como sensible. Cuando no se observa zona alguna, o solamente se ven trazas de inhibición se informa que el microorganismo es resistente o no sensible, en ocasiones puede haber algún crecimiento dentro de la zona de inhibición lo que puede deberse a las siguientes causas:

- A. Lectura tardía de la prueba. Los microorganismos inhibición pero no muertos por la droga, aparecen después de la difusión de esta en el medio. Esta situación es frecuente cuando se usan drogas bacteriostáticas (Sulfonamidas).
- B. Presencia de microorganismos resistentes en una población de bacterias sensibles.
   En este caso se debe de interpretar como de resistencia.
- C. En un cultivo primario, mismo en el cual es posible la presencia de un microorganismo diferente no susceptible a la droga mezclada con microorganismos sensibles.
- D. Discos viejos, caducos que han perdido potencia.

Existen distintos métodos siendo los más importantes los de:

Difusión: habitualmente cualitativos. Atendiendo al halo de inhibición que aparece alrededor del disco, se clasifican los microorganismos como sensibles (S), intermedios (I) o resistentes (R) según sea la eficacia obtenida por el agente antimicrobiano frente al microorganismo.

Dilución: es un estudio cuantitativo. Se emplean una serie de tubos con distintas concentraciones de agente antimicrobiano (4-128 g/ml). Se observa el crecimiento de los microorganismos mediante la aparición de turbidez, o el cambio de color indicador incorporado al medio. La sensibilidad de una bacteria a un antibiótico viene dada por la C.M.I. es la concentración mínima inhibitoria, representa la mínima cantidad de antimicrobiano capaz de inhibir el crecimiento de un microorganismo.

C.M.B. concentración mínima bactericida. Es la concentración mínima que mata el microorganismo. Normalmente, la CMI es suficiente para combatir una determinada infección ya que los mecanismos inmunitarios se encargan de eliminar al microorganismo.

Detección de beta lactamasas: Algunos microorganismos son capaces de producir estas enzimas, que destruyen los derivados del grupo de las penicilinas, hidrolizando el anillo betalactámico. Se aplica esta prueba a los siguientes microorganismos: *Staphylococcus aureus, Haemóphilus influzae y Neisseria gonorrhoeae*.

El antibiograma por el método de difusión en agar es una de las pruebas utilizadas para determinar la sensibilidad de un microorganismo frente a un antibiótico. En esta prueba se enfrenta la bacteria inoculada sobre la superficie de un medio de agar a una solución antibiótica absorbida en discos de papel de filtro o en pastillas.

#### IV METODOLOGIA

#### 4.1 Descripción del Lugar de Investigación.

El presente trabajo de investigación se realizó en las instalaciones que ocupa la granja del Centro de Desarrollo de Producción Porcina (CDPP), ubicado en la Universidad Nacional de Agricultura, 6 Km al sureste de la ciudad de Catacamas, Olancho. Presenta una temperatura promedio de 25° C y una humedad relativa de 67.66%, una precipitación pluvial promedio de 1311.25 mm anual, y a una altitud de 350 msnm (Douglas D. 2009)

#### 4.2 Características de la Granja

El CDPP posee una granja multiplicadora, cuyo objetivo principal es la producción de pie de cría de alta calidad genética para los productores y centros de docencia de Honduras. La granja tiene una capacidad de 200 vientres y 26 verracos alojados en confinamiento, en la cual se encuentran razas Duroc, Landrace y Yorkshire (Duglas D. 2009)

#### 4.3 Materiales y Equipo

En el campo se utilizó hisopos de mango largo, tubos de ensayo, un termo con abundante hielo. En el laboratorio, placas Petri, medios de cultivo (Mac konke, muller Hilton, gelosa de sangre) asa bacteriológica, mechero de bunsen, cámara de inoculación, discos de sensibilidad (penicilina, oxitetraciclina, tilosina, enrofloxacina), hoja de resultados.

La identificación de cerdas que presentan secreciones vaginales la cual se realizó por simple observación.

#### 4.4 Manejo de la Investigación

La investigación se realizó en el hato de cerdas de la granja porcina de la Universidad Nacional de Agricultura.

#### 4.5 Toma de Muestras

Se identificaron las cerdas que presentaron una secreción vagina patológica, observándose su sintomatología que muestre la cerda para tener algún conocimiento del tipo de infección que pueda tener el animal. (Véase en anexo 1).

La muestra se tomó con un hisopos con mango largo como medio de transporté, siendo estos los más utilizados para este tipo de muestreo, y mango largo para facilitar su manejo y tener el cuidado de no tocar otra parte de la cerda que no sea la de interés, para evitar problemas en el laboratorios a la hora de la identificación de la bacteria.

Luego de dar varios movimientos en la vulva para la buena impregnación del hisopo con el exudado proseguimos a tapar el hisopo para mayor asepsia. Colocándose luego en un termo con abundante hielo para mantener una temperatura de unos 4 a 6 °C hasta la llegada al laboratorio y que este no sobrepase las 24 horas.

El laboratorio donde se realizaron las pruebas de microbiología está ubicado en la Ciudad de Juticalpa, Olancho.

4.6 Protocolo para el análisis en laboratorio

1. Obtener la muestra de secreción vaginal, recolectadas con los medios de transporte.

2. Preparación de Medios de Cultivo (Agar gelosa Sangre, Mac Conkey) y Bioquímica

para Enterobacterias (Kliger, MIO, Lisina, Urea, Fenilalina, Citrato).

3. Cultivar secreciones en el laboratorio: Primer Día

a. La muestra se sembró con el mismo hisopo ya que este realiza la misma función

que el asa bacteriológica, se realizó la extracción de la muestra por estria en

medio de cultivo de Gelosa Sangre con Azida de Sodio el cual nos sirve para

cultivar la mayoría de los microorganismos porque este proporcionan los

requerimientos nutricionales necesarios, con agar Mac conkey el cual se utilizo

para el aislamiento de bacilos Gram negativos de fácil desarrollo y facultativos.

b. Luego procedimos a colocarlas en la cámara de incubación a una temperatura de

37 grados centígrados por 24 horas.

c. Se realizó el examen en fresco

4. Al día siguiente se aislaron las bacterias en gelosa sangre y en Mac Conkey:

A Gelosa Sangre: Identificar Staphylococcus y Streptococcus

B Prueba de Coagulasa: Para identificar Staphylococcus aureus

1. Se hizo una suspensión en caldo cerebro corazón

2. Se adiciono 0.1 ml del cultivo en tubos de que contengan 0.3 ml de plasma

humano.

3. Se incubo la dilución 4 horas a 37 grados centígrados.

4. Leer la prueba :

Positiva: Presencia de coagulo

Negativa: Ausencia de coagulo

26

Las que resultaron negativas se aplicó tinción de Gram para comprobar posibles géneros de Streptococcus sp u otros Staphylococcus (Gram positivas) con el método siguiente:

Coloración de Gram

- 1. Se desinfecto el área de trabajo en cloro al 10%.
- 2. Se hizo un frotis de cada cultivo y fijarlo al color.
- 3. Se coloreo con cristal violeta oxalatado durante un minuto.
- 4. Se lavó con agua.
- 5. Se cubrió la preparación con lugol durante un minuto.
- 6. Se lavó con agua.
- 7. Se decoloro con alcohol-acetona exactamente cuatro segundos
- 8. Se lavó con abundante agua.
- 9. Se coloreo con safranina durante un minuto.
- 10. Se lavó con agua.
- 11. Se dejó secar.
- 12. Se observó a inmersión ( 100 x ).

C Mac Conkey: Identificación de bacteria gran negativa.

Realizar bioquímica con los siguientes medios:

- 1. Medio kliger
- 2. Medio MIO (Movilidad, Indol, Ornitina)
- 3. Medio lisina
- 4. Medio urea
- 5. Medio fenilalina
- 6. Medio citrato
- 7. Incubar 24 horas a 37 grados centígrados
- 5 Leer las pruebas de Enterobacterias en la tabla de identificación.

6 Realizar a las colonias como Staphylococcus, Streptococcus y enterobacterias el antibiograma en medio de agar mueller hinton el cual es el medio recomendado universalmente para pruebas de sensibilidad a los antimicrobianos por 24 horas a 37 grados centígrados con los siguientes antibióticos:

| 1. | Ciprofloxacina | <ol><li>Kanamicina</li></ol>     | 9. Trim – sulfa   | 13.Novobiacina                     |
|----|----------------|----------------------------------|-------------------|------------------------------------|
| 2. | Cefuroxina     | <ol><li>6. Amoxicilina</li></ol> | 10. Streptomicina | <ol><li>14. Norfloxacina</li></ol> |
| 3. | Amikasin       | 7. Gentamicina                   | 11.Fosfocil       | 15.Nitrofurantoina                 |
| 4. | Ceftriaxona    | 8. Tetraciclina                  | 12.Penicilina     | 16 Cefaclor                        |

7 Leer antibiograma.

#### 4.7 Variables Evaluadas

# 4.7.1 Identificación del Agente Etiológico.

Este valor es expresado por la identificación del tipo de infección (Bacterias) según el diagnóstico hecho a la cerdas examinadas.

Este valor se expresa en términos de porcentaje, por agente etiológico.

$$Ag = \frac{NM + Ag}{TME}$$

Dónde:

Ag: antígeno.

NM+Ag: número de muestras positivas a un antígeno.

TME: total de muestras evaluadas.

4.7.2 Sensibilidad y Resistencia del Agente Etiológico al Antibiótico.

Bacteria no resistente a antibióticos, hay cepas sensibles y resistentes

$$AgSA = \frac{NMSA}{TMP}.$$

Dónde:

AgSA: Agente etiológico con sensibilidad a los antibióticos.

NMSA: número de muestras sensibles al antibiótico.

TMP: total de muestras positivas.

4.7.3 Bioseguridad

Elaboración de un plan de bioseguridad que lleve al control de los agentes patológicos identificados en las infecciones vaginales, esto se hará corrigiendo manejos de la cerda al momento del parto e investigando a que desinfectantes son susceptibles los agentes

patológicos encontrados en este experimento.

29

#### V RESULTADOS Y DISCUSION

## 5.1 Identificación del Agente Etiológico.

La identificación de los agentes etiológicos encontrados en este estudio como se muestras en el Cuadro 3, se puede observar que Staphilococcus sp y Citrobacter freundii fueron lo que presentaron una incidencia 22.5%. Cada uno.

**Cuadro 3**. Identificación de agentes etiológicos presentes en las infecciones vaginales en cerdas en la granja porcina de la Universidad Nacional de Agricultura.

| Agente Patológico        | Número de casos | Incidencia (%) |
|--------------------------|-----------------|----------------|
| Citrobacter freundii     | 7               | 22.5 %         |
| Staphilococcus sp.       | 7               | 22.5 %         |
| Enterobacter aglomerans  | 3               | 9.6 %          |
| Staphilococcus epidermis | 2               | 3.2 %          |
| Proteus mirabilis        | 2               | 6.4 %          |
| Enterobacter aerogenes   | 2               | 6.4 %          |
| Citrobacter diversus     | 1               | 3.2 %          |
| Streptococcus epidermis  | 1               | 3.2 %          |
| E. coli                  | 1               | 3.2 %          |
| Enterobacter cloacae     | 1               | 3.2 %          |

La mayor incidencia de los géneros Staphylococcus sp y Citrobacter freundii puede ser atribuido a la antigüedad de la granja lo que incrementa la posibilidad de presentarse altos índice bacteriano al momento del parto, produciendo el ingreso de las bacterias por esa vía que resulta ser la más común, aun cuando no pueden descartarse el contagio debido al tránsito de personas u objetos contaminados.

## 5.2 Sensibilidad y Resistencia de los agentes etiológico a los antibióticos.

En el Cuadro 4 se presentan la Sensibilidad y Resistencia a los agentes etiológicos Gram + a los antibióticos.

| Antibióticos    | Staphylococcus sp | Staphylococcus epidermis | Streptococcus epidermis |
|-----------------|-------------------|--------------------------|-------------------------|
| Amikasin        | S                 | S                        | S                       |
| Amoxicilina     | S                 | S                        | S                       |
| Ceftriaxona     | S                 | S                        | S                       |
| Cefuroxima      | S                 | S                        | S                       |
| Ciprofloxacina  | S                 | S                        | S                       |
| Fosfosil        | R                 | S                        | S                       |
| Gentamicina     | R                 | S                        | S                       |
| Kanamicina      | S                 | S                        | S                       |
| Nitrofurantoina | R                 | S                        | S                       |
| Norfloxacina    | R                 | S                        | S                       |
| Novobiacina     | R                 | S                        | S                       |
| Penicilina      | S                 | S                        | S                       |
| Tetraciclina    | R                 | S                        | S                       |
| Trim-sulfa      | R                 | S                        | S                       |
| Streptomicina   | S                 | S                        | S                       |
| Cefaclor        | S                 | S                        | S                       |

Las bacterias Staphylococcus epidermis, Streptococcus epidermis presentaron una sensibilidad del 100% a los antibióticos analizados, debido a que son bacterias que se encuentran en el medio ambiente y esporádicamente pueden originar secreción vaginal patológica, en cambio el Staphylococcus sp es sensible al 56% de los antibióticos analizados debido a que son bacterias que ocasionan infecciones vaginales.

De las bacterias Gram + solamente el Staphylococcus sp resulto ser resistente al 44% de los antibióticos evaluados, siendo importante destacar que de este porcentaje un 50% corresponde a los antibióticos (tetraciclina, gentamicina, trim-sulfa) usados más frecuentemente para tratar esas enfermedades.

En el Cuadro 5 se observa que las bacterias Escherichia coli y Enterobacter aglomerans presentaron una sensibilidad de un 75% a los antibióticos evaluados, debido a que son bacterias menos frecuentes en secreciones vaginales de origen patológicas en las cerdas, entre tanto, la bacteria Proteus mirabilis (75%), Enterobacter aerogenes (46.7%) presentaron una mayor resistencia a los antibióticos evaluados, resaltando que estas dos bacterias son resistentes a los antibióticos tradicionales para el tratamiento de este tipo de infección.

Cuadro 5. Sensibilidad y Resistencia de los agentes etiológicos Gram - a los antibióticos.

| Antibiótico  | Citrobac | Citrobac | Escheric | Proteu | Enteroba  | Enteroba | Enteroba |
|--------------|----------|----------|----------|--------|-----------|----------|----------|
| s            | ter      | ter      | hia coli | S      | cter      | cter     | cter     |
|              | freundii | diversus |          | mirabi | aerogenes | aglomera | cloacae  |
|              |          |          |          | lis    |           | ns       |          |
| Amikasin     | S        | S        | S        | S      | S         | S        | NT       |
| Amoxicilin   | S        | S        | S        | S      | S         | S        | S        |
| a            |          |          |          |        |           |          |          |
| Ceftriaxona  | S        | S        | S        | R      | S         | S        | S        |
| Cefuroxima   | S        | S        | S        | R      | S         | S        | S        |
| Ciprofloxac  | R        | S        | S        | R      | S         | S        | S        |
| ina          |          |          |          |        |           |          |          |
| Fosfosil     | S        | NT       | S        | S      | S         | R        | S        |
| Gentamicin   | S        | R        | S        | R      | R         | S        | R        |
| a            |          |          |          |        |           |          |          |
| Kanamicina   | S        | NT       | S        | R      | S         | S        | NT       |
| Nitrofurant  | S        | R        | S        | R      | R         | S        | R        |
| oina         |          |          |          |        |           |          |          |
| Norfloxacin  | S        | R        | S        | R      | R         | S        | R        |
| a            |          |          |          |        |           |          |          |
| Novobiacin   | R        | R        | R        | R      | R         | S        | R        |
| a            |          |          |          |        |           |          |          |
| Penicilina   | R        | NT       | R        | R      | R         | S        | NT       |
| Tetraciclina | R        | R        | R        | R      | R         | R        | R        |
| Trim –sulfa  | R        | R        | R        | R      | R         | R        | R        |
| Streptomici  | S        | NT       | S        | R      | NT        | S        | NT       |
| na           |          |          |          |        |           |          |          |
| Cefaclor     | S        | NT       | S        | S      | S         | NT       | NT       |

En los Cuadros 6 y 7 podemos observan el comportamiento de los diferentes antibiótico a los principales agentes etiológicos causante de la enfermedad. Se puede observar una resistencia a las tetraciclinas y trim-sulfa en cambio todavía se presenta una buena sensibilidad a las penicilina, las enrofloxacina y tilosina, estos dos últimos antibióticos no se pudieron utilizar en el antibiograma debido a que no había disponibilidad de discos de sensibilidad (viales)en el mercado.

Cuadro 6. Staphylococcus sp.

| Identificación | Sensibilidad          | Resistencia         | Tratamiento     |
|----------------|-----------------------|---------------------|-----------------|
| D 326-1        | Amoxicilina,          | Gentamicina,        | Oxitetraciclina |
|                | Ciprofloxacina,       | Tetraciclina, Trim- |                 |
|                | Amikasin,             | sulfa, Fosfosil     |                 |
|                | Cefalotina            |                     |                 |
| D 183-5        | Amikasin,             | Gentamicina,        | Penicilina      |
|                | Penicilina,           | Tetraciclina, Trim- |                 |
|                | Cefalotina,           | sulfa, Novobiacina  |                 |
|                | Amoxicilina           |                     |                 |
| L 159-4        | Cefalotina,           | Trim- sulfa,        | Enrofloxacina   |
|                | Gentamicina,          | Kanamicina,         |                 |
|                | Tetraciclina,         | Norfloxacina,       |                 |
|                | Amoxicilina           | Nitrofurantoina     |                 |
| Y 244-2        | Cefalotina,           | Novobiacina,        | Tilosina        |
|                | Amoxicilina, Trim-    | Norfloxacina,       |                 |
|                | sulfa, Kanamicina     | Tetraciclina,       |                 |
|                |                       | Nitrofurantoina     |                 |
| L 251-5        | Penicilina, Cefaclor, | Amoxicilina,        | Tilosina        |
|                | Cefalotina,           | Gentamicina,        |                 |
|                | Ciprofloxacina        | Tetraciclina, Trim- |                 |
|                | _                     | sulfa               |                 |
| TH 157-4       | Amoxicilina,          | Tetraciclina,       | Enrofloxacina   |
|                | Gentamicina, Trim-    | Penicilina          |                 |
|                | sulfa, Fosfosil       |                     |                 |
| L 94-2         | Amoxicilina,          | Gentamicina,        | Tilosina        |
|                | Amikasin,             | Tetraciclina, Trim- |                 |
|                | Ciprofloxacina,       | sulfa, Fosfosil     |                 |
|                | Cefalotina            |                     |                 |

Cuadro 7. Citrobacter freundii.

| Identificación | Sensible              | Resistente          | Tratamiento   |
|----------------|-----------------------|---------------------|---------------|
| D 147-3        | Cefaclor, Amikasin,   | Amoxicilina,        | Enrofloxacina |
|                | Penicilina            | Gentamicina,        |               |
|                |                       | Tetraciclina, Trim- |               |
|                |                       | sulfa               |               |
| TH 143-8       | Amoxicilina,          | Novobiacina, Trim-  | Enrofloxacina |
|                | Gentamicina,          | sulfa, Penicilina   |               |
|                | Tetraciclina,         |                     |               |
|                | Fosfosil              |                     |               |
| TH 142-3       | Trim-sulfa, Fosfosil, | Penicilina,         | Enrofloxacina |
|                | Ceftriaxona,          | Tetraciclina,       |               |
|                | Kanamicina            | Amikasin,           |               |
|                |                       | Novobiacina         |               |
| H 22-5         | Amoxicilina,          | Tetraciclina,       | Penicilina    |
|                | Gentamicina,          | Novobiacina         |               |
|                | Penicilina, Trim-     |                     |               |
|                | sulfa                 |                     |               |
| H 283-3        | Amoxicilina,          | Trim- sulfa,        | Enrofloxacina |
|                | Gentamicina,          | Novobiacina,        |               |
|                | Fosfosil,             | Penicilina,         |               |
|                | Ciprofloxacina        | Novobiacina         |               |
| TH 165-4       | Amoxicilina,          | Trim- sulfa,        | Enrofloxacina |
|                | Gentamicina,          | Tetraciclina,       |               |
|                | Penicilina, Fosfosil  | Novobiacina,        |               |
|                |                       | Norfloxacina        |               |
| Y 300-4        | Gentamicina,          | Tetraciclina        | Penicilina    |
|                | Penicilina,           |                     |               |
|                | Amoxicilina,          |                     |               |
|                | Fosfosil              |                     |               |

#### 5.3 Bioseguridad

Los Staphylococcus son ubicuos en la piel y en las mucosas y es frecuente su introducción a través de las soluciones de continuidad de la piel. Una limpieza prolija de la herida con jabón germicida y la aplicación de un antiséptico (solución yodada, hexaclorofenol al 3%) previene la infección.

A partir del tubo digestivo, las enterobacterias son excretadas al medio exterior donde sobreviven y proliferan. De la presencia de enterobacterias depende la calidad sanitaria del agua o de un producto alimenticio, la ausencia de estas bacterias garantiza la ausencia de patógenos.

Se tiene que aislar los animales que presenten estas infecciones vaginales con la finalidad que otras cerdas se contaminen, la higiene sistemática de heridas ( tanto de tejidos blandos como de tejidos duros), del lugar donde se encuentran los animales y sobre todo al momento del parto un mejor manejo.

Desinfecta las cuadras de gestación y maternidad con amonio cuaternario al momento de entrar o salir una cerda y encalarlas por lo menos cada 6 meses con la finalidad de reducir el riesgo de contaminación directa

#### VI CONCLUSIONES

Los agentes patógenos Staphylococcus epidermis y Citrobacter freundii fueron las bacterias que presentaron mayor incidencia en las infecciones vaginales.

Las bacterias Gram + Staphylococcus epidermis y Streptococcus presentaron una mayor sensibilidad a los antibióticos analizados y los géneros Staphylococcus y Proteus mirabilis fueron las bacterias que tuvieron mayor resistencia a los antibióticos.

La mayoría de las bacterias son resistentes a los tratamientos a base de antibióticos tradicionales (tetraciclina, trim-sulfa, gentamicina.)

El antibiótico que mejor actúa ante Staphylococcus sp y Citrobacter freundii fue la penicilina.

#### VII RECOMENDACIONES

Implementar un registro de los antibiogramas para llevar un control y evitar el uso inadecuado de los antibióticos.

Elaborar y cumplir las normas de bioseguridad dentro y fuera de la granja para evitar el ingreso de agentes etiológicos.

Realizar análisis de laboratorio con el fin de tener un mejor control de los agentes etiológicos.

Usar los antibióticos en las dosis y frecuencias correctas para un mejor control de los agentes infecciosos y evitar resistencia a ellos.

Realizar este experimento en otras granjas cercanas a la universidad para ver si existe una tendencia igual de los antibióticos a esas infecciones.

#### VIII BIBLIOGRAFIA

Albina E; Leforban Y; Baron T. and Vainner P. 1992 an enzyme linked imnunosorbet así (ELISA) for the detection of antibodies to the porcine reproductive and respiratory síndrome (PRRS) virus. Ann. Rech. Veteriary 23(2):167-176.

Alexander T. The changing paterns of disease in the modern swine industry. Allen Leman Swine Conference. 9-15 (1995).

Alton GG. Brucella suis. Brucelosis porcina. Manual de la OIE sobre animales terrestres. (2004).

Bouma A 2000. Transmisible virus disease in porcine reproduction. Reproduction in Domestic Animals 35 (6): 243-246.

De Winter P.J.J. Bacterial endometritis and vaginal discharge in the sow: prevalence of different bacterial species and experimental reproduction of the syndrome. Animal Reproduction Science 37 pp 325-335 (1995).

Done, S.H; Paton D. J; 1995. Porcine reproductive and respiratory syndrome (PRRS) Veterinary Record 136(14):32-35. Consultado en linea el dia 20 de marzo del 2011. Disponible en www.produccion-animal.com.ar

Duarte D. Ingenieros Agrónomo. Tesis. Estimación de parámetros genéticos en cerdos de la piara del centro de desarrollo de producción porcina (CDPP). (2009)

Gottschalk M. Revisão sobre a infecção por Streptococcus suis em suínos e importância do agente como causa de infecção em seres humanos. Acta Scientiae Veterinariae. 37(Supl 1): s73-s79, 2009.

Lager K. M; Mengeling W. L. and Brookmeir S. L. 1996 Effect of post coital intrauterine inoculation of porcine reproductive and respiratory syndrome virus on caonception gilts. Veterinary Record 138(9):227-228.

Mendez T.A. 1996. Diagnóstico del síndrome Reproductivo y Respiratorio Porcino. Memorias de la II Jornada e Producción Porcina UNAM-FMVZ, Depto. de Prod. en cerdos. Pag. 12-17.

Meredith M.J. Pig Veterinary Journal 22, 51-61. (1989).

Muirhead M. Vaginal discharge signals reproductive woes Pigletter. Vol. 2 N°. 7 (1982).

Madrid L, Arias M, 2003. Manual de laboratorio de microbiología general. Universidad Nacional Autonoma de Honduras. 92 p.

Pol J.M. A. Van Dijk J. K. Wensvoort G. And Terpstra C. 1991. Pathological ultraestructural and inmunohistochemical changes caused by Leystad virus in experimentally induced mystery swine disease (syninym: porcine epidemic abortion and respiratory syndrome (PEARS). Veterinary Quarterly 13:137-143.

Prieto C y Castro J. M. 1998a. Síndrome reproductivo y respiratorio porcino: aspectos más importantes de la enfermedad Parte1. Anaporc 175:1-15.

Quiles, A. y Hevia, M.L. Factores que afectan la tasa de mortalidad neonatal de los lechones. Departamento de Producción Animal. Facultad de Veterinaria. Universidad de Murcia. Campus de Espinardo. 30071 –Murcia, 2011.

Rodriguez Y. 2000. Determinación de mastitis bovina en Catacamas y Santa Maria del Real, Olancho, Honduras. Tesis Ing. Agrónomo. Universidad Nacional de Agricultura. Catacamas, Olancho. 25-27 p.

Taylor MA. Pig diseases. Cystitis in sows. Seventh edition. PLC. Great Britain, 1999, 243-247, 635-637.

Vallecillo M. Ingeniero Agrónomo. Tesis. Identificación de agentes patógenos causantes de infecciones vaginales en cerdas en la granja porcina de la Universidad Nacional de Agricultura. (2011).

# IX Anexos

Anexo 1. Clasificación de descargas vulvares fisiológicas y patológicas.

| Descarga fisiológicas |                               |              |                    |        |  |  |
|-----------------------|-------------------------------|--------------|--------------------|--------|--|--|
| Tipo de<br>descarga   | Cantidad                      | Consistencia | Color              | Olor   |  |  |
| Proestro/estro        | Poca                          | Acuosa       | Claro-<br>grisaseo | No     |  |  |
| Postmonta(2 días)     | Poca                          | Espeso       | Blanco – grisaseo  | No     |  |  |
| Gestante              | Poca                          | Espeso       | Blanco – grisaseo  | No     |  |  |
| Loquios post parto    | 15 ml<br>decrece en 3<br>días | Espeso       | Variado            | Ligero |  |  |

| Descarga patológicas   |          |              |                         |           |  |  |
|------------------------|----------|--------------|-------------------------|-----------|--|--|
| Tipo de<br>descarga    | Cantidad | Consistencia | Color                   | Mal olor  |  |  |
| Vaginitis<br>/cervitis | Poca     | Espeso       | Blanco –<br>amarillento | Severo    |  |  |
| Aborto                 | Variable | Variable     | Con sangre              | Ocasional |  |  |

| Descarga patológicas |          |                  |      |          |                  |  |
|----------------------|----------|------------------|------|----------|------------------|--|
| Vía                  | Cantidad | Pus              | Moco | Sangre   | Frecuencia       |  |
| Vulva                | 5-10ml   | Si               | No   | No       | 1-2 veces        |  |
| Vagina               | 30ml     | Si               | No   | Variable | Intermitente     |  |
| Cérvix               | Poca     | Si               | No   | No       | Poco             |  |
|                      |          |                  |      |          | frecuente        |  |
| Ovario + oviducto    | Poca     | Deposito<br>gris | No   | No       | Raro             |  |
| Vejiga               | 1ml      | Si               | Si   | Si       | Muy              |  |
|                      |          |                  |      |          | frecuente        |  |
| Riñón                | 1ml      | Si               | Si   | Si       | Muy<br>frecuente |  |