

**UNIVERSIDAD NACIONAL JORGE BASADRE GROHMANN**

**Facultad de Ciencias Agropecuarias  
Escuela Profesional de Medicina Veterinaria y Zootecnia**

IDENTIFICAR LAS LESIONES MACRO Y MICROSCÓPICAS EN CERDOS  
NEONATOS DE LA RAZA PIETRAIN, INOCULADOS CON LA

CEPA *Escherichia Coli*  $\beta$ -Hemolítica,

TACNA – 2018

**TESIS**

Presentada por:

**Bach. HAROLD IVÁN CANDRO VELA**

Para optar el título profesional de:

**MÉDICO VETERINARIO Y ZOOTECNISTA**

TACNA – PERÚ

2023

# UNIVERSIDAD NACIONAL JORGE BASADRE GROHMANN

Facultad de Ciencias Agropecuarias


Escuela Profesional de Medicina Veterinaria y Zootecnia

## TESIS

IDENTIFICAR LAS LESIONES MACRO Y MICROSCOPICAS  
EN CERDOS NEONATOS DE LA RAZA PIETRAIN,  
INOCULADOS CON LA CEPA *Escherichia Coli*  $\beta$ -Hemolítica,  
TACNA- 2018

TESIS SUSTENTADA Y APROBADA SIENDO EL 27 DE ENERO DEL 2023;  
ESTANDO EL JURADO CALIFICADOR INTEGRADO POR:

PRESIDENTE: .....

  
MSc. Cesario Sebastián Cruz Anchapuri


SECRETARIO: .....

  
MSc. Teodora Julia Condori Silvestre

VOCAL: .....

  
MSc. Duany Condemayta Cutipa

ASESOR: .....

  
MSc. Luis Alberto Barrios Moquillaza

## CERTIFICADO DE SIMILITUD

La comisión de grados y títulos de la carrera profesional de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la facultad de Ciencias Agropecuaria declara que el trabajo de investigación denominado: "IDENTIFICAR LAS LESIONES MACRO Y MICROSCÓPICAS EN CERDOS NEONATOS DE LA RAZA PIETRAIN, INOCULADOS CON LA CEPA *Escherichia Coli*  $\beta$ -Hemolítica, TACNA – 2018" sustentada el 27 de Enero del 2023, presentado por el bachiller Harold Iván, Candro Vela para optar el título profesional de médico veterinario y Zootecnista.

Habiendo cumplido con lo establecido en el reglamento de originalidad y similitud de trabajos de investigación y producción intelectual, considerando que según la revisión, evaluación y análisis realizado a través del software de similitud textual TURNITIN cuenta con el nivel de similitud permitido cuyo porcentaje es 16%. Por lo que CERTIFICO QUE LA SIMILARIDAD de tesis está de acuerdo al nivel PERMITIDO, para continuar con los trámites correspondientes y para su publicación en el repositorio institucional.

Se emite el presente certificado con fines de continuar con los trámites respectivos para su obtención del título.

Tacna, 27 de Enero del 2023



Firma del Asesor

DNI: 00493968

Nombre y Apellido del Asesor: Dr. Luis Alberto, Barrios Moquillaza

## **DEDICATORIA**

A Dios que me ha guiado, me ha dado fuerzas y me ha impulsado para seguir adelante pese a cada obstáculo que se puede haber presentado. Él ha sido y será mi guía.

A mis padres Eloy y María que han sido mi motor mis ganas de cada día levantarme y seguir luchando por las metas anheladas, gracias por su confianza y su apoyo en todos estos años de universidad, por su esfuerzo para que yo pueda convertirme en un profesional.

A mis hermanos Cristian, Gustavo, Katy y mi tío Jesús Candro por brindarme su apoyo y entera confianza en cada reto que se me presentaba.

A mi pareja Yudy por brindarme su apoyo de manera incondicional, por su amor y paciencia a lo largo de los años y sobre todo por la confianza que depositó en mí.

Al Dr. Joel Chinchazo Montoya por la guía brindada y al Hospital Veterinario City Can.

## **AGRADECIMIENTO**

A los honorables profesores que me han ayudado durante estos años de estudio, especialmente a los que después de haber pasado por sus aulas siguen siendo nuestro apoyo y amigos.

Y sobre todo a mi tutor Dr. MSc. Luis Alberto Barrios Moquillaza por el tiempo, paciencia y dedicación que ha tenido para guiarme durante este tiempo de trabajo y de manera especial al Dr. Hugo Flores Aybar que me guio con sus conocimientos y experiencias.

Gracias también a mis amigos Julia, Andrea, Alvaro, Jonathan, Juan Jesús, Rina que me permitieron entrar en sus vidas y junto a ellos crecer como persona.

Y a mi querida Escuela Profesional de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Nacional Jorge Basadre que tantos años me cobijó dentro de sus aulas.

Quiero que mi más especial agradecimiento vaya dirigido al Dr. Fernando Fernández porque su inestimable ayuda que ha hecho posible la realización de esta tesis. Gracias profesor por su tiempo y paciencia por permitir realizar mi tesis y por su constante interés en el desarrollo de mi tesis.

## ÍNDICE DE CONTENIDO

DEDICATORIA .....	iiiv
AGRADECIMIENTO .....	v
CONTENIDO .....	vi
ÍNDICE DE TABLAS.....	ix
ÍNDICE DE FIGURAS.....	x
ÍNDICE DE ANEXOS.....	xi
RESUMEN.....	xii
ABSTRACT .....	xiii
INTRODUCCIÓN.....	1
CAPÍTULO I: PLANTEAMIENTO DE PROBLEMA.....	3
1.1.DESCRIPCIÓN DEL PROBLEMA.....	3
1.2.FORMULACIÓN DE PROBLEMA.....	5
1.3.JUSTIFICACIÓN.....	5
1.4.OBJETIVOS.....	6
1.4.1.Objetivo general.....	6
1.4.2.Objetivos específicos.....	7
1.5.HIPÓTESIS.....	7
CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO .....	8

2.1. ANTECEDENTES .....	8
2.1.1. Antecedente a nivel nacional.....	8
2.1.2. Antecedente a nivel internacional.....	9
2.2. BASES TEÓRICAS.....	11
2.2.1. Colibacilosis neonatal.....	11
2.2.2. Enfermedades del porcino.....	12
2.2.3. <i>Escherichia coli</i> .....	12
2.2.4. Presentaciones clínicas.....	13
2.2.5. Hallazgos anato-histopatológicos.....	16
2.2.6. Inmunidad.....	18
2.3. BASE CONCEPTUAL .....	19
CAPÍTULO III: MATERIAL Y MÉTODOS.....	21
3.1. UBICACIÓN GEOGRÁFICA Y TEMPORAL.....	21
3.2. TIPO DE INVESTIGACIÓN.....	22
3.3. POBLACIÓN .....	22
3.4. UNIDAD DE ESTUDIO.....	22
3.5. MUESTRA.....	22
3.6. MATERIALES.....	23
3.7. MÉTODO.....	25
3.7.1. Selección de neonatos .....	25

3.7.2. Inoculación .....	25
3.8. RECOLECCIÓN DE DATOS .....	26
3.8.1. Eutanasia.....	26
3.8.2. Necropsia y toma de muestra.....	27
3.8.3. Fijación y transporte de muestra biológica .....	27
3.8.4. Evaluación de lesión macroscópicas.....	27
3.8.5. Evaluación de lesión microscópicas .....	28
3.8.6. Cultivo microbiológico.....	29
3.9. ANÁLISIS DE DATOS .....	29
CAPÍTULO IV: RESULTADOS .....	30
4.1. RESULTADOS DE LAS LESIONES MACRO Y MICROSCÓPICAS SEGÚN HORAS POST INOCULACIÓN .....	30
4.2. RESULTADOS DE LAS LESIONES MACRO Y MICROSCÓPICAS SEGÚN SEXO POST INOCULACIÓN .....	32
CAPÍTULO V: DISCUSIÓN .....	40
CONTRASTACIÓN DE HIPÓTESIS .....	42
CONCLUSIONES .....	43
RECOMENDACIONES.....	44
REFERENCIA BIBLIOGRÁFICA .....	45
ANEXOS .....	51

## ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1: Grupos de cerdos inoculados experimentalmente y cepa de <i>Escherichia coli</i> administrada.....	25
Tabla 2: Identificación de Grado de Lesiones de las 12-72 horas .....	30
Tabla 3: Identificación de Grado de Lesiones 96 horas.....	34
Tabla 4: Identificación de Grado de Lesiones Macroscópicas de las 96hrs, según sexo .....	35
Tabla 5: Identificación de Grado de Lesiones Microscópicas a las 96hrs, según sexo .....	36

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: Suspensión .....	28
Figura 2: Dilución.....	28
Figura 3: Histopatología Duodeno .....	37
Figura 4: Histopatología Yeyuno.....	38
Figura 5: Histopatología Íleon .....	39
Figura 6: Necropsia de 12-72 horas.....	56
Figura 7: Necropsia a las 96 horas.....	57
Figura 8: Histología.....	58
Figura 9: Inoculación y Soluciones.....	59
Figura 10: Cepas.....	61
Figura 11: Criptas de Intestino Duodeno.....	62
Figura 12: Criptas de Intestino de Yeyuno.....	63
Figura 13: Criptas de Intestino de Íleon.....	64
Figura 14: Lesión en Intestino.....	65
Figura 15: Lesiones en vellosidad intestinal.....	66

## ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1.	Lesiones Macro y Microscópicas de los Animales en Experimentación.....	53
Anexo 2.	Recolección de datos.....	54
Anexo 3.	Análisis de Varianza.....	55
Anexo 4.	Necropsia.....	56
Anexo 5.	Histología.....	58
Anexo 6.	Preparación del Inóculo y soluciones.....	59
Anexo 7.	Constancia del Laboratorio.....	60
Anexo 8.	Cepas De <i>Escherichia coli</i> $\beta$ hemolítica.....	61
Anexo 9.	Relación Vellosidades Intestinales: Criptas Por Parte De Intestino (Duodeno, Yeyuno e Íleon).....	62
Anexo 10.	Lesiones de Intestino.....	65

## RESUMEN

El trabajo de investigación se realizó en la granja Don Marcial, ubicado en el Distrito de Pocollay, departamento de Tacna 2018. El objetivo fue identificar las lesiones macro y microscópicas en el tracto gastrointestinal en cerdos neonatos de la raza Pietrain, inoculados con la cepa *Escherichia coli*  $\beta$ -hemolítica según tiempo post-inoculación y según sexo, donde se establecieron los grados de lesión de 0 a 3, se utilizaron 10 cerdos neonatos siendo 5 hembras y 5 machos como grupo experimental a los cuales se les inoculó vía oral una suspensión de *E. coli*  $\beta$ -hemolítica de  $10^8 - 10^9$  Unidades Formadoras de Colonias (UFC) y 02 cerdos neonatos siendo 01 macho y 01 hembra como grupo testigo, fueron distribuidos en 4 grupos, para corroborar que las lesiones por la bacteria *E. coli*  $\beta$ -hemolítica se realizó cultivo microbiológico antes de fijarlos para histopatología, lo cual se procedió a hacer la eutanasia con tiopental sódico a las 12, 24, 48, 72 y 96 horas post inoculación. Se obtuvieron los siguientes resultados, no se identificaron lesiones macro y microscópicas de las 12 a las 72 horas post inoculación y el cultivo microbiológico fue negativo, se identificaron las lesiones macro y microscópicas a las 96 horas post inoculación y el cultivo microbiológico fue positivo, se presentaron lesiones macroscópicas como: Congestión, hemorragia, contenido intestinal acuoso ligeramente amarillo con burbujas y gas, en los tres segmentos del intestino delgado y lesiones microscópicas como: presencia de bacterias en ápice de células epiteliales intestinales, congestión, hemorragia y atrofia de vellosidades intestinales, clasificándose las lesiones en grado 2 y 3 en duodeno, yeyuno e Íleon. Se concluye que la cepa de *Escherichia coli*  $\beta$  hemolítica ocasiona lesiones macro y microscópicas en los tres segmentos de intestino delgado (Duodeno, Yeyuno e Íleon) a las 96hrs post inoculación en ambos sexos (macho y hembra).

**Palabras clave:** *Escherichia coli*  $\beta$ -hemolítica inoculación lesiones macroscópicas lesiones microscópicas, inoculación.

## ABSTRACT

The research work was carried out at the Don Marcial farm, located in the District of Pocollay, department of Tacna 2018. The objective was to identify macroscopic and microscopic lesions in the gastrointestinal tract in neonate pigs of the Pietrain breed, inoculated with the *Escherichia* strain.  $\beta$ -hemolytic coli according to post-inoculation time and according to sex, where the degrees of lesion from 0 to 3 were established, 10 newborn pigs were used, 5 females and 5 males as an experimental group to which they were inoculated orally with a suspension of  $\beta$ -hemolytic *E. coli* of 10<sup>8</sup> - 10<sup>9</sup> Colony Forming Units (CFU) and 02 neonatal pigs, 01 male and 01 female as a control group, were distributed into 4 groups, to corroborate that the lesions caused by the bacterium *E. coli*  $\beta$ - hemolytic microbiological culture was performed before fixing them for histopathology, which was euthanized with sodium thiopental at 12, 24, 48, 72 and 96 hours post inoculation. The following results were obtained: macro and microscopic lesions were not identified from 12 to 72 hours post inoculation and the microbiological culture was negative, macro and microscopic lesions were identified at 96 hours post inoculation and the microbiological culture was positive. They presented macroscopic lesions such as: Congestion, hemorrhage, slightly yellow watery intestinal content with bubbles and gas, in the three segments of the small intestine and microscopic lesions such as: presence of bacteria at the apex of intestinal epithelial cells, congestion, hemorrhage and atrophy of intestinal villi, classifying the lesions in grade 2 and 3 in the duodenum, jejunum and ileum. It is concluded that the  *$\beta$ -hemolytic Escherichia coli* strain causes macro and microscopic lesions in the three segments of the small intestine (Duodenum, Jejunum and ileum) 96 hours after inoculation in both sexes (male and female).

Key words:  *$\beta$ -hemolytic Escherichia coli*, inoculation, macroscopic lesions, microscopic lesions, inoculation.

## INTRODUCCIÓN

La Colibacilosis es un proceso diarreico que se presenta en la crianza de cerdos en forma intensiva, es una de las enfermedades más frecuentes en recién nacidos y destetados (Quiles & Hevia, 2018), siendo la colibacilosis o enfermedad de los edemas originada por cepas de *Escherichia coli* patógenas. Se conocen, al menos, dos formas diferentes de la enfermedad: colibacilosis entérica (diferentes grados de diarrea) y la colibacilosis septicémica (septicemia y muerte rápida) (McOrist, 2014).

Cuando las cepas de *Escherichia coli*, se adhieren a las vellosidades intestinales, y específicamente a la parte apical de los enterocitos, desarrollan complicaciones diarreicas, produciendo enterotoxinas que estimulan al enterocito a bombear líquido al lumen intestinal, incrementando la motilidad intestinal, aumentando la salida de líquido de los vasos hacia el lumen intestinal, y una consecuente falta de asimilación de nutrientes (Sanmartin et al., 2017). La cepa *Escherichia coli* es la causa más importante de diarrea en animales neonatos (Rodríguez, 2002).

El presente trabajo de investigación tiene como finalidad, identificar lesiones macroscópicas y microscópicas ocasionadas a través de la cepa *Escherichia coli*  $\beta$ -hemolítica en cerdos neonatales de la raza Pietrain, valiéndose para tal efecto, la aplicación de la patología experimental.

Las cepas de *Escherichia coli* patogénicas se consideran como parte formal de las granjas de porcinos, teniendo como principales factores de riesgo una deficiente sanidad e higiene, ambientes con inadecuadas corrientes de aire, alto porcentaje de proteínas en las dietas, aunado a infecciones secundarias por virus.

Esta enfermedad ha tenido un curso uniforme a través del tiempo, siendo observadas las principales lesiones en el intestino (Ballina & Bencomo, 2010), para lo cual es necesario que las muestras para histopatología sean tomadas con cuidado y sumergidas en formol bufferado al 10 % para su fijación y observar cambios microscópicos (Magías, 2020).

Si bien el bienestar animal, la salud y la integridad son fundamentales en toda explotación animal, se debe contemplar como principal interés el poder medir las pérdidas económicas asociadas a tratamientos, muertes y disminución de los parámetros productivos, para lo cual se deben identificar cuáles son esos cambios que se presentan en especial en el sistema digestivo (Lopera, 2016).

## CAPÍTULO I

### PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

#### 1.1. DESCRIPCIÓN DEL PROBLEMA

La colibacilosis originada por la cepa *Escherichia coli* se caracteriza por afectar principalmente a cerditos lactantes con una presentación digestiva conocida como Enterotóxica (ETEC) y otra generalizada denominada Septicémica. La virulencia de ETEC está dada por factores de adhesión denominados fimbrias y en parte por la producción de toxinas que estimulan la secreción de electrolitos y agua por la mucosa intestinal (Gyles, 1993).

El diagnóstico de las enfermedades digestivas está basado en la combinación de la historia, la observación clínica, las pruebas de laboratorio y necropsias. Por lo tanto, el diagnóstico clínico sólo puede ser tentativo cuando está basado en la observación de signos (Christensen, 1992).

La cepa *Escherichia coli* (*E. coli*) es una de las especies predominantes en el intestino humano y animales de sangre caliente y usualmente coexiste sin causar daño al hospedero; sin embargo, han emergido categorías de cepa *Escherichia coli* patogénicas que producen diarrea en humanos y animales. Referidas como *Escherichia coli* diarreogénicas o comúnmente como *Escherichia coli* patogénicas, estas categorías son clasificados en base a sus factores de virulencia (toxinas, plásmidos, fimbrias y factores de señalización) y pueden ser únicamente identificados por estas características. Hoy en día existe un considerable incremento

de brotes ocasionados por la cepa *Escherichia coli* diarreogénicas, afectando a miles de personas y animales (morbilidad y mortalidad) en diferentes países (Yoder, 2006), así como también en México (Cortés, 2002). El origen principal de este incremento de brotes es la contaminación de los alimentos por estos patógenos, convirtiéndolos en los vehículos ideales de transmisión de infecciones a los humanos y animales (Sainz, 2001).

Estudios realizados por diversos investigadores señalan que la cepa *Escherichia coli*, es uno de los patógenos virulentos frecuentes productores de diarrea en los animales. Investigaciones realizadas sobre *E. coli* determinan que existen seis categorías y de acuerdo a los factores de virulencia que presentan manifiestan diferentes cuadros clínicos (Nataro & Kaper, 1998).

Las infecciones por la cepa *Escherichia coli*  $\beta$ -hemolítica, son importantes sobre todo en cerdos neonatos que causan grandes infecciones caracterizadas por síndromes febriles asociados a manifestaciones gastrointestinales o sistémicas, con frecuencia severas, que son las responsables de pérdidas económicas para los productores, debido a que afectan a los cerdos de todas las edades, con una mayor incidencia en cerdos neonatos, aumentando así en esta etapa, el porcentaje de mortalidad. De otro lado es importante establecer si los pies de cría de los porcinos se encuentran libres de la cepa *Escherichia coli* por su impacto en la salud alimentaria (Vargas et al., 2004).

El objetivo de este trabajo es identificar las lesiones macro y microscópicas por la presencia de la cepa *Escherichia coli*  $\beta$ -hemolítica en los cerdos neonatos de la raza Pietrain, Tacna – Perú 2018.

## **1.2. FORMULACIÓN DEL PROBLEMA**

¿Cuáles son las lesiones macro y microscópicas en cerdos neonatos de la Raza Pietrain, inoculados con la cepa de *Escherichia coli*  $\beta$ -hemolítica, Tacna – 2018?

## **1.3. JUSTIFICACIÓN**

El diagnóstico de las enfermedades digestivas está basado en la combinación de la historia, la observación clínica, las pruebas de laboratorio y necropsias. Por lo tanto, el diagnóstico clínico sólo puede ser tentativo cuando está basado en la observación de signos (Elanco, 2014).

El presente trabajo tiene como finalidad en ayudar a la rentabilidad de las empresas porcinas (sistema de crianza intensiva, extensiva y familiar), porque va de la mano con el conocimiento de las enfermedades y por consiguiente la salud de los animales.

Se cree que por medio de la identificación de la caracterización de lesiones macro y microscópicas del tracto digestivo y su correlación con los signos clínicos presentados se podría promover el rendimiento de producción de las diferentes granjas porcícolas y generar información que permita establecer medidas de control, tratamiento y líneas de investigación que lleven a una mayor rentabilidad de los sistemas de crianza de porcinos (Schwartz, 2011).

Los resultados del presente trabajo de investigación van a ser de suma importancia para los productores porcinos, ya que se conoce muy poco acerca de la cepa *Escherichia coli*, esto debido a la falta de estudios sobre el tema que nos permita saber la problemática actual de la cepa *Escherichia coli*.

Por esta razón surgió la necesidad de realizar este estudio, ya que el conocimiento de identificar las lesiones macro y microscópicas en cerdos neonatos de raza Pietrain, permitirán avanzar en el mejor entendimiento de los signos clínicos y fácil diagnóstico de la enfermedad diarreica, y esto repercutirá positivamente en el monitoreo, vigilancia, y detección oportuna de estas categorías para prevenir posibles brotes en los criaderos.

En el presente trabajo se describirá las lesiones macro y microscópicas causantes de mortalidad en crías de cerdos neonatos de la raza Pietrain diagnosticadas con procesos entéricos, con el fin de ayudar a mejorar la comprensión de la patogenia de la enteritis.

## **1.4. OBJETIVOS**

### **1.4.1. OBJETIVO GENERAL**

- Identificar las lesiones macro y microscópicas en el tracto gastrointestinal en cerdos neonatos de la raza Pietrain, inoculados con la cepa *Escherichia coli*  $\beta$ -hemolítica, Tacna 2018.

#### 1.4.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Identificar las lesiones macro y microscópicas en el tracto gastrointestinal en cerdos neonatos inoculados con la cepa de *Escherichia coli*  $\beta$ -hemolítica según tiempo post-inoculación (12hrs, 24hrs, 48hrs, 72 y 96hrs), Tacna 2018.
- Identificar las lesiones macro y microscópicas en el tracto gastrointestinal en cerdos neonatos inoculados con la cepa de *Escherichia coli*  $\beta$ -hemolítica según sexo, Tacna 2018.

#### 1.5. HIPÓTESIS:

Ho: La inoculación vía oral de  $10^8$  a  $10^9$  de *Escherichia coli*  $\beta$ -hemolítica en cerdos neonatos de la raza Pietrain no produce lesiones macroscópicas y microscópicas en el intestino delgado (Duodeno, Yeyuno e Íleon) a partir de las 96 horas según sexo post inoculación.

Hi: La inoculación vía oral de  $10^8$  a  $10^9$  de *Escherichia coli*  $\beta$ -hemolítica en cerdos neonatos de la raza Pietrain produce lesiones macroscópicas y microscópicas en el intestino delgado (Duodeno, Yeyuno e Íleon) a partir de las 96 horas según sexo post inoculación.

## **CAPÍTULO II**

### **MARCO TEÓRICO**

#### **2.1. ANTECEDENTES**

##### **2.1.1. ANTECEDENTES A NIVEL NACIONAL**

Se estudiaron 48 muestras de intestino de crías de alpaca muertas por procesos diarreicos en época seca (junio-agosto, 2002) en la Estación Experimental del Centro de Investigación MTA, Cusco, y en la campaña de parición (febrero, 2003) en una comunidad alpaquera de Nuñoa, Puno. Se tomaron muestras de intestino, fijadas en formol al 15% y coloreadas con Hematoxilina-Eosina. Treinta y siete casos fueron compatibles con procesos bacterianos, donde 30 correspondieron a cuadros de enterotoxemia y 7 animales murieron con lesiones compatibles con colibacilosis a la necropsia, se apreciaron estructuras basófilas de 3 a 4 micras de diámetro en el ápice de las vellosidades y en las criptas de Lieberkhün, y caracterizadas por moderada a severa acumulación de fluido intralumninal, acompañados de moderada a severa hiperemia (Palacios et al., 2005).

En el año 2014, se presentó un trabajo monográfico donde describe un brote de Gastroenteritis coliforme, ocurrido en una granja comercial de porcinos del Distrito de Carabayllo - Lima, en el mes de abril de 1996, los animales presentaron

un cuadro diarreico pos destete a los 30 a 34 días, siendo los más afectados aquellos que presentaban mejores pesos cuyos resultados fueron por cultivo microbiológico y un antibiograma, ocasionada por una *E. coli* beta hemolítica con resistencia a muchos antibióticos de uso común. Estudio del cuadro clínico, previo a la muerte incluía decaimiento general y anorexia marcada. Los animales no tomaban agua y no podían movilizarse por debilidad. Los exámenes anatopatológicos e histopatológicos, mostraron deshidratación severa, cianosis de extremidades, congestión a nivel de musculo e hígado. El intestino con contenido acuoso, y el estómago lleno de alimento (Rodriguez N., 2014).

### **2.1.2. ANTECEDENTES A NIVEL INTERNACIONAL**

Se presentó un trabajo de investigación para determinar y comparar las Alteraciones Histopatológicas Producidas por dos cepas Enteropatógenas de *Escherichia coli* en lechones gnotobióticos, donde 33 lechones gnotobióticos, divididos en 2 grupos; 12 lechones fueron inoculados (oral) con cepa Enteropatógenas 3372 de *E. coli* 0147:K89, K88 y 21 animales fueron inoculados (oral) con cepa 3252 de *E. coli* 0101 :K., donde la cepa 3372 productora de enterotoxinas, demostraron como una capa adherida estrechamente a la mucosa del intestino delgado no produjeron enteritis ni atrofia de las vellosidades. La relación promedio entre la longitud de las vellosidades y la profundidad de las criptas fue de 11,0 micras de diámetro. La cepa 3252 comenzó con signos a las 4 hrs. las heces eran de color amarillo - grisáceo y acuosas y contenían pequeños coágulos, la cepa penetró los enterocitos con infiltración celular posterior de la lámina propia y atrofia de las vellosidades. La relación promedio entre la longitud de las

vellosidades y la profundidad de las criptas en el yeyuno y el íleon de estos animales disminuyó a 4,6 a 0,7 micras de diámetro a las 12 a 16 h. después de la infección (Hornich et al., 1975).

Se realizó un estudio retrospectivo para determinar los hallazgos clínicos, patológicos y microbiológicos de Gastroenteritis hemorrágica por *Escherichia coli* en lechones, en el laboratorio de diagnóstico de la Facultad de Medicina Veterinaria de la Universidad de Montreal, para describir las características clínicas, patológicas y bacteriológicas. Hallazgos en 55 casos de gastroenteritis hemorrágica (HGE) causada por *Escherichia coli* en lechones. La afección ocurrió en lechones destetados y lactantes y fue asociado con varios serogrupos de *E. coli*. La mayoría de los aislados de *E. coli* poseían la adhesina F4 (K88) y eran hemolíticos. Sólo algunos de los aislamientos de *E. coli* produjo verotoxinas. Signos clínicos y hallazgos patológicos observados en estos casos fueron compatible con shock. En muchos casos había un moderado infiltrado de neutrófilos dentro de las vellosidades intestinales, lámina propia y mucosa, necrosis de las vellosidades con marcada infiltración de neutrófilos ocurrió en casos severos (Faubert y Drolet, 1992).

Se realizó un trabajo de investigación con el propósito de evaluar los efectos patológicos de cepas enteropatógenas de *E. coli* que expresan antígenos fimbriales F4, F5, F6 y F41, administradas oralmente a cerdos neonatos que no ingirieron calostro. Los cerdos inoculados experimentalmente con las cuatro cepas enteropatógenas de *E. coli* presentaron diarrea acuosa y de color amarilla a las 4 horas post inoculación. Las lesiones macroscópicas se caracterizaron por

congestión y abundante contenido acuoso, apreciándose diferencias solo en la intensidad lesional entre los diferentes grupos inoculados. Microscópicamente, el íleon fue el segmento más afectado, observándose congestión, adherencia bacteriana, vacuolización epitelial de las vellosidades intestinales, atrofia, infiltrados de neutrófilos y necrosis linfoide en placas de Peyer, siendo la cepa *E. coli* F4 responsable de las lesiones de mayor severidad. Los resultados de la presente investigación confirman la importancia de los antígenos fimbriales como factor de adhesión de cepas enteropatógenas de *E. coli* al intestino delgado de cerdos lactantes y las acciones de otros factores patógenos (Canal et al., 1999).

## **2.2. BASES TEÓRICAS**

### **2.2.1. COLIBACILOSIS NEONATAL**

La colibacilosis debida a *Escherichia coli* en lechones lactantes a menudo se produce en una edad temprana, dentro de la primera semana de vida. Normalmente está asociada a camadas de cerdas primerizas, que se infectan rápidamente después del nacimiento debido a la contaminación ambiental y a los niveles inadecuados de anticuerpos maternos. Por lo tanto, este tipo de enfermedad causada por *E. coli* es más frecuente en el parto y la lactancia, cuando se realizan en edificios antiguos con un bajo nivel de atención a la limpieza e higiene de los suelos, áreas de parto y corrales (McOrist 2014).

### **2.2.2. ENFERMEDADES DEL PORCINO**

La diarrea por *Escherichia coli* es la patología digestiva más prevalente en lechones recién nacidos (comúnmente de 24-48 horas). Las camadas de primerizas se ven más afectadas y en ellas la diarrea es más grave. La mortalidad es elevada si no se aplica rápidamente un tratamiento. El contagio es siempre por vía oral al ingerir el lechón lactante las cepas patógenas de *E.coli*. La diarrea de tipo acuoso, se produce cuando las cepas enteropatógenas de *E.coli* se adhieren a la superficie del epitelio intestinal gracias a sus fimbrias, alterando los enterocitos y destruyendo las microvellosidades intestinales (Cura, 2008).

La diarrea en cerdos es una enfermedad multifactorial que impacta negativamente en la eficiencia productiva en carne de cerdo a nivel mundial, siendo la *Escherichia coli* el patógeno más frecuente con 25,6 % con respecto a otros virus, bacteria y parásitos que representan en conjunto un 74,4%, mostrando también una alta resistencia frente a antibióticos (Rodríguez, 2014).

### **2.2.3. *Escherichia coli***

*Esta bacteria* se describió por primera vez en 1885 por el pediatra alemán Theodore Escherich. Fue nombrada inicialmente como "*Bacterium coli commune*", pero en 1919 fue renombrada con el nombre actual en honor a su descubridor. (Nataro & Kaper, 1998).

Los representantes de esta especie son bacilos gramnegativos, oxidasa negativos, con un tamaño promedio de 1,1-1,5 µm de ancho y 2,0-6,0 µm de largo

(Hirsh & Chung Zee, 1999). De acuerdo a sus requerimientos de oxígeno son anaerobios facultativos y pueden ser móviles por la presencia de flagelos peritricos o no móviles (Scheutz et al., 2005). Existen dos tipos de *Escherichia coli* patogénicas en porcinos de acuerdo a sus características de crecimiento: hemolítica y no hemolítica, en función de la capacidad o no del microorganismo para provocar la hemólisis de la sangre (Quiles & Hevia, 2018).

#### **2.2.4. PRESENTACIONES CLÍNICAS**

El signo clínico característico de la diarrea neonatal por *Escherichia coli* es una diarrea de color amarillo pálido, profusa y acuosa. En casos severos se aprecia deshidratación, acidosis metabólica y muerte, que sobreviene a las 12-24 horas de iniciarse la diarrea. La enfermedad se puede presentar desde las 2-3 horas posteriores al parto hasta los siete días de vida. Una vez es ingerida, la bacteria coloniza el tramo final del intestino delgado, cuyas células epiteliales poseen receptores para los pili. La expresión de estos receptores está relacionada con la edad, así los cerdos más jóvenes son menos susceptibles a la colonización. Sin embargo, algunos cerdos poseen una mutación específica en el gen requerido para la expresión de estos receptores lo que les hace resistentes a la infección. Recientemente, se ha comprobado que es posible identificar estos animales resistentes mediante un sencillo test de PCR y por lo tanto cabe la posibilidad de seleccionarlos (Cura, 2008).

En los cerdos neonatos suele presentarse una diarrea severa, acuosa de color amarillenta, que se acompaña de una severa acidosis metabólica y deshidratación. Los animales suelen presentar los ojos hundidos, un estómago distendido, a veces repleto de alimento seco o acompañado de abundante moco.

Ocasionalmente los animales pueden presentar vómitos. Las asas intestinales (intestino delgado), y en ocasiones el colon, suelen estar dilatadas y llenas de gas, ligeramente hiperémicas y con un contenido muy fluido, que puede ser desde espumoso a acuoso, de un olor característico (Vidal, 2017).

Duodeno: es la parte del intestino delgado que conecta el estómago con el yeyuno. El duodeno está situado en la parte posterior y superior del abdomen, en el retro peritoneo, siendo la única porción del intestino delgado que se encuentra fijo, y está formado totalmente por músculo liso. Su inflamación da lugar a la duodenitis, y se suele asociar a gastritis y/o úlceras (Dirección de Educación Agraria, 2019).

Yeyuno: es una de las partes del intestino delgado, entre el duodeno y el íleon. Su función es realizar la absorción de las sustancias del quimo alimenticio. En este tramo del intestino delgado actúa el jugo intestinal, que degrada al mínimo los hidratos de carbono, las proteínas y los lípidos. La pared del yeyuno presenta las vellosidades intestinales, cuya función es traspasar al torrente sanguíneo las sustancias anteriormente señaladas. En síntesis, presenta vellosidades que absorben los nutrientes hacia la vena intestinal para ir a parar a la sangre (Dirección de Educación Agraria, 2019).

Íleon: El íleon es la sección final del intestino delgado, en el aparato digestivo. El intestino delgado presenta gran número de vellosidades intestinales que aumentan la superficie de absorción de los nutrientes. El íleon cumple con funciones de secreción, absorción y motilidad, que completan el procesado de los nutrientes. En él se absorbe la vitamina B12 y la mayor parte de las sales biliares. La mucosa yeyuno-ileal contiene acúmulos de tejido linfóide, denominados placas de Peyer, que son más numerosos en el íleon (Dirección de Educación Agraria, 2019).

**Deshidratación:** La deshidratación ocurre cuando el cuerpo no tiene tanta agua y líquidos como es necesario. Puede ser leve, moderada o grave, según la cantidad de líquido corporal que se haya perdido o que no se haya repuesto. La deshidratación grave es una emergencia que pone la vida en peligro (LAPISA, 2010).

**Dilatación de estómago:** Es una afección potencialmente mortal en la que el estómago se llena de aire y se retuerce. Gas se acumula en el estómago torcido y lo estira. Este estiramiento, también llamado distensión, es extremadamente dolorosa y limita la cantidad de sangre que puede llegar a otras partes del cuerpo. Cuando la sangre no puede llegar a los tejidos del cuerpo para suministrar oxígeno, estos tejidos pueden morir (Schwartz, 2011).

**Congestión vascular:** Acumulación anormal o excesiva de sangre en los vasos de un órgano. Se manifiesta por trastornos de su función y un aumento de volumen. La congestión puede ser activa o pasiva; la activa es el resultado de una irritación o inflamación local y se caracteriza por un aumento del flujo arterial; la congestión pasiva está provocada por un obstáculo en la circulación (Schwartz, 2011).

**Vellosidades intestinales:** Las vellosidades intestinales son una especie de filamentos en forma de dedos que sobresalen de las paredes del intestino, en concreto del duodeno. Miden entre 0,5 y 1 mm de largo aproximadamente y cuentan con gran cantidad de microvellosidades. A pesar de que son muy pequeñas, cumplen un papel esencial en el proceso de la digestión y absorción de los nutrientes, por eso cuando están dañadas dan lugar a una gran cantidad de consecuencias para nuestro organismo (Canal et al., 1999). **Diarrea acuosa amarillenta:** es una enfermedad intestinal generalmente infecciosa y auto limitada,

se caracteriza por presentar evacuaciones líquidas o de consistencia disminuida, en número mayor a tres en 24 horas y con evolución menor de dos semanas. Diarrea persistente se define como el paso de evacuaciones semilíquidas por más de dos semanas, en tanto que la diarrea crónica se establece a las cuatro semanas (Schwartz, 2011).

Vacuolización epitelial: Proceso de crecimiento y diferenciación de las células. Por efecto de la vacuolización, las células aumentan considerablemente de tamaño (Schwartz, 2011).

#### **2.2.5. HALLAZGOS ANATO-HISTOPATOLÓGICOS**

Son en la mayoría de los casos lesiones inespecíficas las que vamos a encontrar en un caso de una gastroenteritis por *E. coli*. Es decir muchas enfermedades pueden ser parte del diagnóstico diferencial lesional y de signos clínicos (Jackson & Cockroft, 2009).

En neonatos con problemas, ya sea con septicemia o con enteropatía los signos clínicos van a ser escasos y van a desarrollarse de forma muy aguda no dando tiempo para el tratamiento. Al examen de necropsia sobretodo en casos de colibacilosis enterotoxigénica, la deshidratación es siempre muy marcada. El estómago puede encontrarse con muy poco contenido o vacío. Los intestinos delgado y grueso con la mucosa adelgazada y con contenido acuoso (Jackson, 2009). En el caso de lechones recién destetados, las lesiones son muy similares solo que la inflamación más severa se ve a nivel del intestino grueso y la deshidratación no es tan marcada (Gyles et al., 2010), (Jackson & Cockroft, 2009).

Lesiones anatopatológicas, las alteraciones que se encuentran en los cerdos con enteritis producidas por *E. coli* son: enteritis catarral, que puede ser moderada o grave y que se caracteriza por congestión de los vasos mesentéricos anteriores y

posteriores. El estómago puede contener cantidades variables de la leche coagulada, pero por lo general no presenta alteraciones hemorrágicas notables. El intestino contiene a menudo una sustancia acuosa amarillenta y gaseosa. Los ganglios linfáticos mesentéricos pueden estar aumentados de tamaño y edematosos. Los casos de enteritis hemorrágicas son poco frecuentes. En los cerdos de más edad con enteritis necrótica se han aislado serotipos patógenos de *E. coli*. Es de presumir que tales organismos contribuyan al desarrollo de dicho estado. En cualquier edad se puede encontrar como complicaciones neumonías, peritonitis y pleuritis (Frasser et al., 1993). En los casos de septicemia, la piel puede presentar cierta coloración, que casi siempre es moderada, los abscesos de las articulaciones se presentan a veces después de que la septicemia ha declinado (Wenneras et al., 1990).

Lesiones Histopatológicas, Las lesiones histológicas son mínimas: se trata de una lesión bioquímica, pero un gran número de bacterias coliformes pueden unirse a las vellosidades. La recogida adecuada de muestras para el examen patológico requiere que se sumerjan en formalina tamponada en menos de 30 minutos después de la muerte. La interpretación de las muestras intestinales de los animales que llevan más de una hora muertos son muy problemáticas. A través de la curvatura mayor se produce la distensión de la submucosa del estómago por fluido gelatinoso claro (figura 9) y, a menudo, en el colon la inflamación es muy notable en el meso colon, en la flexura espiral (McOrist, 2015).

Microscópicamente lo más característico es la presencia de numerosas bacterias adheridas a la superficie de los enterocitos de unas vellosidades intestinales que aparecen intactas. Las consecuencias clínicas suelen con llevar

una mortalidad que puede llegar a ser elevada y en algunos animales retraso crónico en el crecimiento (Vidal, 2017).

### **2.2.6. INMUNIDAD**

Aunque los animales viven en ambientes densamente poblados de bacterias, la mayoría de estos organismos no invaden los tejidos animales ni causan enfermedades. Esto no es sorprendente por varias razones. Primero, los esfuerzos combinados de los sistemas inmunológico innato y adaptativo son suficientes para prevenir la invasión (Tizard, 2013).

La inmunidad natural es importante porque permite a los mamíferos transmitir anticuerpos especialmente a los recién nacidos a través del calostro, la inmunoglobulina G tiene posibilidad de eliminar el antígeno destruyéndolo por activación del complemento, en el intestino se produce desgranulación de mastocitos permitiendo la llegada de IgG al intestino. El neonato al nacimiento tiene escasa cantidad de anticuerpos lo que implica de los anticuerpos serán pasados de la madre al neonato a través del calostro para quedar protegidos en los primeros días de vida, y esta transferencia es completa en cerdos, rumiantes y caballos (Gómez et al., 2007).

El calostro un gran aliado, para los lechones, que nacen sin ninguna protección inmune, es fundamental un correcto y rápido encalostamiento, ya que la absorción de inmunoglobulinas calostrales se produce en las primeras 24 horas post-parto (a las 6-7 horas la cantidad de inmunoglobulinas baja un 50%). Un estudio describe que el 72% de los nacidos mueren porque no han consumido calostro, ya que los lechones que ingieren menos calostro tienen menos vigor y por

tanto mayor predisposición a morir por hipotermia y/o subnutrición (Menjón et al., 2010).

### 2.3. BASE CONCEPTUAL

- **Animales Gnotobióticos:** Aquellos que están completamente libres de agentes patógenos o que pueden hospedar uno o más microorganismos claramente identificados (Layna, 2019).
- **Atrofia:** En términos biológicos consiste en un tipo de articulación con poco movimiento sin importar el tamaño de la célula y del órgano del que forma parte, debido a la pérdida de masa celular. Las células atróficas muestran una disminución de la función pero no están muertas (Canal et al., 1999).
- **Beta hemolítica:** destruye por completo los eritrocitos y se caracteriza por una zona hemolítica clara (hemolisis total) (Vidal & Pallarez, 2009).
- **Cepa bacteriana:** Población de células de una sola especie descendientes de una única célula, usualmente propagada clonalmente, debido al interés en la conservación de sus cualidades definitorias. De una manera más básica puede definirse como un conjunto de especies bacterianas que comparten, al menos, una característica (Cura, 2008).
- **Cerdos neonatos:** O recién nacido es un bebé que tiene 28 días o menos desde su nacimiento. La definición de este período es importante porque representa una etapa muy corta de la vida; sin embargo, en ella suceden cambios muy lentos que pueden derivar en consecuencias importantes para el resto de la vida del recién nacido (Dirección de Educación Agraria, 2009).

- **Cultivo microbiológico:** Un cultivo es la forma en la que se hacen crecer los microorganismos (colonias) en una superficie sólida (agar) o en medio líquido (caldo) e incluso en células (línea celular) y es utilizado como el método principal para poder estudiar a los agentes causales de enfermedades, y saber si se trata de bacterias, hongos, virus, parásitos o algas (Merck, 2010).
- ***E. coli*:** es la bacteria anaerobia facultativa comensal más abundante de la microbiota; asimismo, es uno de los organismos patógenos más relevantes. *Escherichia coli* es un organismo modelo utilizado frecuentemente en experimentos de genética y biología molecular (Cura, 2008).
- **Inoculación:** en biología es ubicar algo que crecerá y se reproducirá, y comúnmente se utiliza esta con respecto a la introducción de suero sanguíneo, una vacuna o una sustancia dentro del cuerpo de un humano o de un animal, especialmente para producir inmunidad a una enfermedad específica (Fox, 2008).
- **Lesión:** Se conoce como lesión (palabra derivada del latín *laesio*) a un golpe, herida, daño, perjuicio o detrimento. El concepto suele estar vinculado al deterioro físico causado por un golpe, una herida o una enfermedad (Elanco, 2014).
- **Necropsia:** Es aquel estudio realizado a un cadáver con la finalidad de investigar y determinar las causas de su muerte (Paredes & Cubillos, 1995).

## **CAPÍTULO III**

### **MATERIAL Y MÉTODOS**

#### **3.1. UBICACIÓN GEOGRÁFICA Y TEMPORAL**

El estudio se realizó en las instalaciones del fundo “DON MAMANI” en PAGO SOBROYA, calle Tarapacá, Av. Colpa del distrito de Pocollay, provincia de Tacna, durante el año del 2018.

El Distrito de Pocollay se ubica al extremo sur del Perú, al Norte de la ciudad de Tacna, en las coordenadas geográficas 17°59´33” latitud sur y 70°13´03” longitud oeste con una altitud promedio de 670 msnm. con una superficie de 265,65 km<sup>2</sup>; Clima: templado subtropical y desértico. La temperatura media es de cerca de 18,6°C, con una máxima de 33°C y una mínima de 6°C.

En cuanto a los análisis de laboratorio se realizaron en el Laboratorio de Microbiología y Patología de la Universidad Católica Santa de María (UCSM) de la Región de Arequipa, contándose con el apoyo del Dr. Fernando Fernández Fernández.

### **3.2. TIPO DE INVESTIGACIÓN**

El presente trabajo científico, siendo del tipo experimental longitudinal, en vista que se recopilará información de manera independiente en diferentes momentos y se manipularan las variables.

### **3.3. POBLACIÓN**

La granja cuenta con una población de 50 porcinos de la raza Pietrain en diferentes etapas de producción.

### **3.4. UNIDAD DE ESTUDIO**

Cerdos neonatos en una numeración de 12 cerdos neonatos.

### **3.5. MUESTRA**

Siendo la investigación de tipo experimental la determinación de la muestra se sujetó a la decisión del investigador, para el presente caso se seleccionaron un total de 12 cerdos de la raza Pietrain, como parte del diseño experimental, se constituyeron de 4 grupos (2 control) de 1 cerdo neonato cada grupo (macho y hembra) y 2 grupos (experimentales) de 5 cerdos cada grupo (machos y hembras), los que se identificaron y se colocaron en ambientes aislados y la administración vía oral de 2 ml de solución salina al grupo control y 2 ml del inóculo preparado (*Escherichia coli*  $\beta$  hemolítica).

Tabla 1 Grupos de cerdos inoculados experimentalmente y cepa de *Escherichia coli* administrada.

Grupo	N.º	Porcinos de la raza Pietrain	<i>E. coli</i> administrada (vía oral)
I	1	Neonato macho control	Solución fisiológica (2 ml) (Control)
II	1	Neonato hembra control	Solución fisiológica (2 ml) (Control)
III	5	Neonatos hembras	<i>E. coli</i> ( $10^8 - 10^9$ UFC en 2 ml.
IV	5	Neonatos machos	<i>E. coli</i> ( $10^8 - 10^9$ UFC en 2 ml.

UFC: Unidades formadoras de colonia

Para la recolección de dichos resultados se elaboró el anexo 1.

### 3.6. MATERIALES

#### 3.6.1. Material biológico

- 12 cerdos neonatos
- Cepa *E. coli beta hemolítica*

#### 3.6.2. Material de Campo

- Vasos de toma de muestra estériles

- Equipo de disección
- Cinta maskingtape
- Cámara de refrigeración (Cooler)
- Hielo
- Hisopos estériles
- Plumón indeleble
- Guantes de látex descartables
- Chaqueta
- Tiopental Sódico (Lab. Astorga S.A.)
- Jeringa hipodérmica de 5ml con aguja 21 x 1,5
- Solución desinfectante (Peróxido de hidrogeno)
- Formol bufferado al 10%

### 3.6.3. Material de Laboratorio

- Agua destilada estéril
- Frasco Pirex de 50 ml
- Frascos pires estériles de 100 ml
- Frascos Pirex de 200 ml
- Guantes de látex descartables
- Hisopos estériles
- Mago de bisturí nro. 4 y hojas bisturí Nro. 23
- Mandil
- Microscopio óptico
- Solución Fisiológica estéril

### **3.7. MÉTODOS**

#### **3.7.1. SELECCIÓN DE NEONATOS**

En coordinación con el dueño o propietario de granja para la adquisición de los 12 cerdos neonato (6 machos y 6 hembras) de 2 camadas que tuvieron parto en la misma fecha y asimismo un área para realizar la experimentación.

Se identificó con aretes en la oreja y los cuales permanecieron con sus madre en lactación durante todo el periodo de investigación.

Para descartar *Escherichia coli beta hemolítica* que puedan alterar los resultados al momento de inocular se tomaron muestras de hisopados rectales de cada uno de los 12 cerdos neonatos al inicio de la experimentación, se envió al laboratorio donde se cultivaron en Agar sangre y Agar McConkey e incubadas por 48 horas a 37° C.

De los cultivos realizados en los que no se observaron crecimiento de colonias *beta hemolítica* se consideraron aptos para el trabajo de investigación. Se seleccionaron más pero solo se escogieron 12 cerdos tal como se muestra en la Tabla 1.

#### **3.7.2. INOCULACIÓN**

Para la inoculación se adquirió una solución madre de *E. coli beta hemolítica* del laboratorio de patología de la (Universidad Católica de Santa María) UCSM y a partir de ella se preparó los inóculos siguiendo el procedimiento descrito por Mc Farland's. Consistía en:

Hacer diluciones dobles a partir de la solución madre hasta obtener en el recuento una cantidad de 412 UFC/ml en la dilución a  $10^{-7}$ , de la solución madre se

agregó 1 ml a 40 ml de solución fisiológica para obtener  $10,3^8$  UFC/ml en la suspensión de inóculo.

Con la solución preparada se procedió a hacer la inoculación a cada animal seleccionado por vía oral a razón de 2ml de la solución preparada.

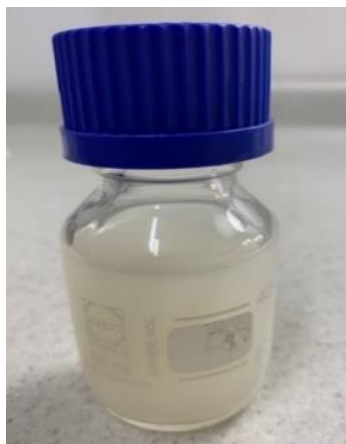


Figura 1: Suspensión Madre

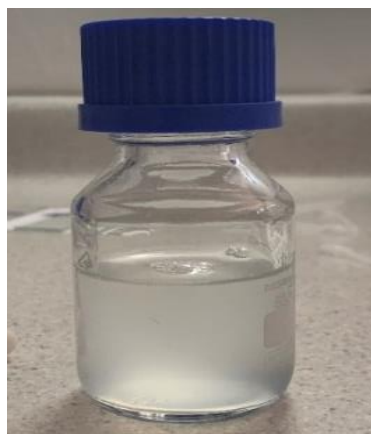


Figura 2: Dilución  $10,3^8$ UFC

### **3.8. RECOLECCIÓN DE DATOS**

#### **3.8.1. EUTANASIA**

Se realizó la eutanasia según lo propuesto a las 12, 24, 48 y 72 horas post inoculación, a razón de 1 animal (cerdo neonato) de cada grupo (4 machos y 4 hembras), asimismo a las 96hrs se realizó la eutanasia al grupo control (1 macho y 1 hembra) y al grupo experimental (1 macho y 1 hembra). Para la eutanasia se usó un promedio de 3 ml de Tiopental Sódico (Lab. Astorga S.A.) Intracardiaco para lo cual se usó jeringa de 5 cc y una aguja 21G/1,5.

### **3.8.2. NECROPSIA Y TOMA DE MUESTRA**

Una vez realizada la eutanasia se procedió con la necropsia según la técnica de Paredes y Cubillos, 1995.

Y simultáneamente se tomaban las muestras necesarias para remitir al laboratorio de patología.

### **3.8.3. FIJACIÓN Y TRANSPORTE DE MUESTRA BIOLÓGICA**

Para llevar a cabo el transporte de muestras, se obtuvieron aproximadamente entre 2 y 3 cm de regiones de tejido de Intestino delgado (Duodeno, yeyuno, e Íleon) la cuales fueron identificadas, etiquetadas y transportadas en formol bufferado al 10%. Se obtuvieron 36 muestras de intestinos de un total de 12 cerdos neonatos experimentados. Previamente se tomaron muestras para cultivo microbiológico en Agar sangre y Agar MacConkey por 48 horas a 37°C para ello se usaron hisopos los cuales fueron remitidos en caldo nutritivo como medio de transporte.

### **3.8.4. EVALUACIÓN DE LESIÓN MACROSCÓPICAS**

Las alteraciones macroscópicas del intestino fueron evaluadas en los siguientes Aspectos:

- Presencia de trastornos circulatorios en la mucosa: congestiva o hemorragias)
- Alteraciones del Contenido intestinal
  - Consistencia (Acuosa, mucosa o espumoso)
  - Coloración del contenido intestinal (amarillo, verde, blanco, café o sangre)
  - Presencia de Gas

Con el propósito de evaluar en mejor forma los grados de lesiones macroscópicas a nivel intestinal, se utilizó la siguiente clasificación según Trhusfield, 1990.

- Grado 0: ausencia de lesiones
- Grado 1: lesión leve: congestión
- Grado 2: lesión moderada: congestión, contenido amarillo y mucoso
- Grado 3: lesión severa: congestión, contenido de sangre y presencia de gas

Para la recolección de dichos resultados se elaboró el anexo 1.

### **3.8.5. EVALUACIÓN DE LESIÓN MICROSCÓPICAS**

De cada segmento intestinal, se realizó la descripción de los cambios histológicos presentes en la mucosa, submucosa, muscular y serosa. La determinación de la relación entre la altura de la vellosidad y la profundidad de la cripta se realizó mediante la utilización de un ocular de medición (Carl-Zeiss C8X), registrándose para ello un promedio de 3 mediciones por segmento, según el procedimiento descrito por Canal y col, 1999 y que se clasifican en:

- Grado 0: no presenta cambios morfológicos.
- Grado 1: leve a moderada atrofia de  $V/C = 4:1$
- Grado 2: moderada atrofia de  $V/C = 3 = 1$ , con infiltración de macrófagos, linfocitos y neutrófilos, edema
- Grado 3: lesiones descritas en el grado 2 de mayor severidad, con severa atrofia y necrosis de  $V/C = 2:1$  o  $1:1$

La recolección de dichos datos se incluye en el anexo 1.

### **3.8.6. CULTIVO MICROBIOLÓGICO**

Para corroborar la presencia o ausencia de lesiones macro – microscópicas se hizo cultivo microbiológico en Agar Sangre para determinar presencia o ausencia de la *E. coli beta hemolítica*.

### **3.9. ANÁLISIS DE DATOS**

Los datos recolectados fueron sometidos a estadística descriptiva usando tablas de frecuencia y promedios, en cuanto a la temporalidad (tiempo inoculación) y sexo del animal con un valor de significancia de 0,05.

Para la contratación de la Hipótesis se usó el análisis de varianza.

## CAPÍTULO IV

### RESULTADOS

#### 4.1. RESULTADOS DE LAS LESIONES MACRO Y MICROSCÓPICAS SEGÚN HORAS POST INOCULACIÓN

##### 4.1.1. LESIONES MACRO Y MICROSCÓPICAS A LAS 12-72 HORAS

Tabla 2: Identificación de Grado de lesiones a las 12 – 72 horas

HORAS	Nº ANIMALES	GRUPOS EXPERIMENTAL						CULTIVO MICROBIOLÓGICO (AGAR SANGRE)
		MACROSCÓPICAS			MICROSCÓPICAS			
		D	Y	I	D	Y	I	
12	02	0	0	0	0	0	0	NEGATIVO
24	02	0	0	0	0	0	0	NEGATIVO
48	02	0	0	0	0	0	0	NEGATIVO
72	02	0	0	0	0	0	0	NEGATIVO
<b>Control</b> <b>(96)</b>	02	0	0	0	0	0	0	NEGATIVO

D = Duodeno; Y = Yeyuno; I = Íleon; Grado 0 = ausencia de lesiones; Grado 1 = lesión leve; Grado 2 = Lesión moderada; Grado 3 = Lesión severa

En la tabla 2, se observa la negatividad de lesiones macro y microscópicas del intestino delgado (Duodeno, Yeyuno e Íleon) de las 12 – 72horas. Post inoculación de la cepa *E. coli*  $\beta$  hemolítica.

Asimismo, con respecto al examen microbiológico se muestra la negatividad para la presencia de la cepa *E. coli beta hemolítica* lo cual corrobora la ausencia de lesiones.

#### 4.1.2. LESIONES MACRO Y MICROSCÓPICAS A LAS 96 HORAS

Tabla 3: Identificación de Grados de lesiones a las 96 horas

Nº	GRUPOS EXPERIMENTAL						CULTIVO MICROBIOLÓGICO (AGAR SANGRE)
	MACROSCÓPICAS			MICROSCÓPICAS			
	D	Y	I	D	Y	I	
<b>02</b>	3	3	3	3	3	3	POSITIVO

D = Duodeno; Y = Yeyuno; I = Íleon; Grado 0 = ausencia de lesiones; Grado 1 = lesión leve; Grado 2 = Lesión moderada; Grado 3 = Lesión severa

En la tabla 3, se observa la positividad de lesiones macro y microscópicas del intestino delgado (Duodeno, Yeyuno e Íleon) a las 96horas post inoculación de la cepa *E. coli*  $\beta$  hemolítica.

Asimismo con respecto al examen microbiológico se muestra la positividad para la presencia de la cepa *E. coli beta hemolítica* lo cual corrobora la presencia de lesiones.

## 4.2. RESULTADOS DE LAS LESIONES MACRO Y MICROSCÓPICAS SEGÚN SEXO POST INOCULACIÓN

### 4.2.1. LESIONES MACROSCÓPICAS SEGÚN SEXO

Tabla 4. Identificación de Grado de Lesiones Macroscópicas a las 96 horas

Lesiones Macroscópicas	Duodeno		Yeyuno		Íleon	
	H	M	H	M	H	M
<b>MUCOSA</b>						
Congestiva	3	3	3	3	3	3
Hemorrágica	3	3	3	3	3	3
<b>CONSISTENCIA</b>						
Acuoso	3	3	3	3	3	3
Mucoso	2	2	2	2	2	2
Espumoso	0	0	0	0	0	0
<b>COLOR</b>	<b>CONTENIDO</b>					
<b>HECES</b>						
Amarillo	2	2	2	2	2	2
Verde	0	0	0	0	0	0
Blanco	0	0	0	0	0	0
Café	0	0	0	0	0	0
Sangre	3	3	3	3	3	3
Presencia de Gas	3	3	3	3	3	3

H = Hembra; M = Macho; Grado 0 = ausencia de lesiones; Grado 1 = lesión leve; Grado 2 = Lesión moderada; Grado 3 = Lesión severa

En la tabla 4, Se Identifica las lesiones macroscópicas de duodeno, yeyuno e íleon, alteraciones de carácter moderado a severo, en los grupos experimentales de ambos sexos a las 96horas, apreciándose que las lesiones estaban focalizadas en mucosa intestinal. En mucosa se observó congestión intestinal con presencia acuosa de color rojo debido a la acumulación de sangre en las venas y hemorragias, y presencia de burbujas de gas. El contenido acuoso y rojo de las heces se apreció como las lesiones más sobresalientes en machos y hembras.

#### 4.2.2. LESIONES MICROSCÓPICAS SEGÚN SEXO

Tabla 5. *Identificación de Grado de Lesiones Microscópicas a las 96 horas*

LESIONES MICROSCÓPICAS	DUODENO		YEYUNO		ILEON	
	H	M	H	M	H	M
<b>MUCOSA</b>						
Vellosidad y cripta	3	3	3	3	3	3
Atrofia	3	3	3	3	3	3
Necrosis total	3	3	3	3	3	3
Adherencia bacteriana	2	2	2	2	2	2
congestión	2	2	2	2	2	2
<b>LAMINA PROPIA</b>						
Inflamación	2	2	2	2	2	2
Congestión	3	3	3	3	3	3
<b>SUBMUCOSA</b>						
Edema	2	2	2	2	2	2
Congestión	2	2	2	2	2	2
<b>MUSCULAR</b>						
Inflamación	2	2	2	2	2	2
<b>SEROSA</b>						
Edema	2	2	2	2	2	2

H = Hembra; M = Macho; Grado 0 = ausencia de lesiones; Grado 1 = lesión leve; Grado 2 = Lesión moderada; Grado 3 = Lesión severa

En la tabla 5, Se Identificó las lesiones microscópicas del duodeno yeyuno e íleon reveló lesiones de moderado a severo, en los grupos experimentales de ambos sexos a las 96horas, se observa las lesiones principalmente en las vellosidades intestinales y cripta con atrofia, necrosis, adherencia bacteriana, congestión y edema. Se muestra el resultado histopatológico de las muestras del intestino delgado referidas a atrofia de vellosidades intestinales teniendo una relación entre Vellosidad intestinal y Criptas intestinales entre 2:1 y 1:1 en cerdos neonatos de ambos sexos (hembra y macho).

Las lesiones microscópicas de duodeno yeyuno e íleon revelo lesiones histopatológicas, las cuales se observa en las siguientes figuras:

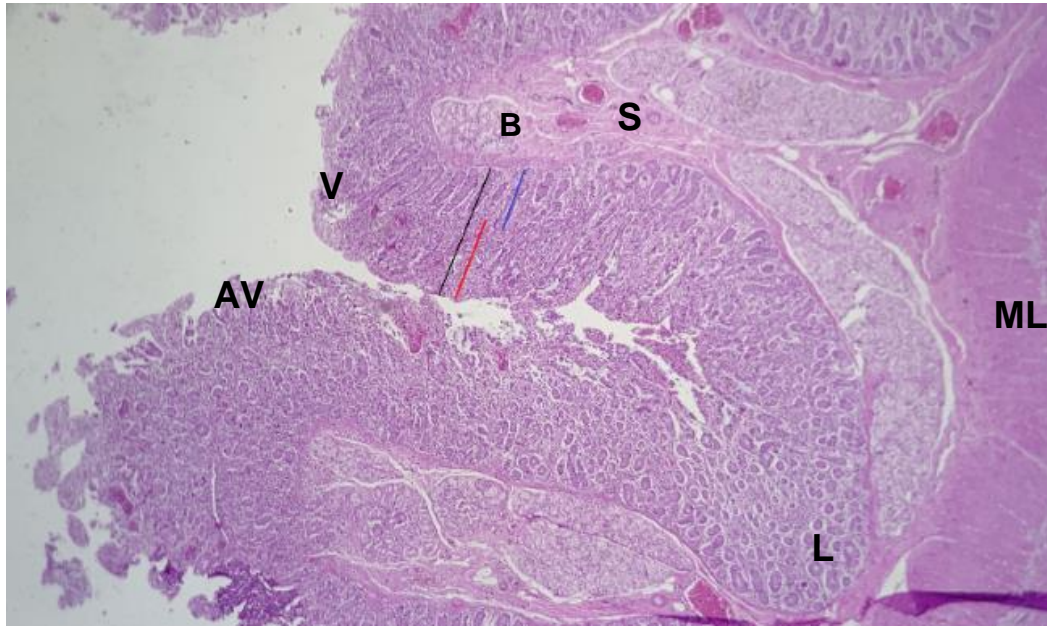


Figura 3: Histopatología Duodeno

En la Figura 3, se muestra un corte transversal de duodeno donde se observan Vellosidades intestinales (V), células epiteliales cilíndricas simples, criptas intestinales, glándulas de Lieberkuhn (L), submucosa con vasos sanguíneos (S) y glándulas de Bruner (B), seguida de musculo liso circular interna (ML) y debajo de estos plexos nerviosos de Auerbach. Las células epiteliales se muestran con necrosis lo que determina la atrofia de velocidades intestinales (AV), La pérdida de proporción en tamaño comparado con las criptas 2:1 y 1:1 (Línea roja vellosidad, Línea azul cripta).

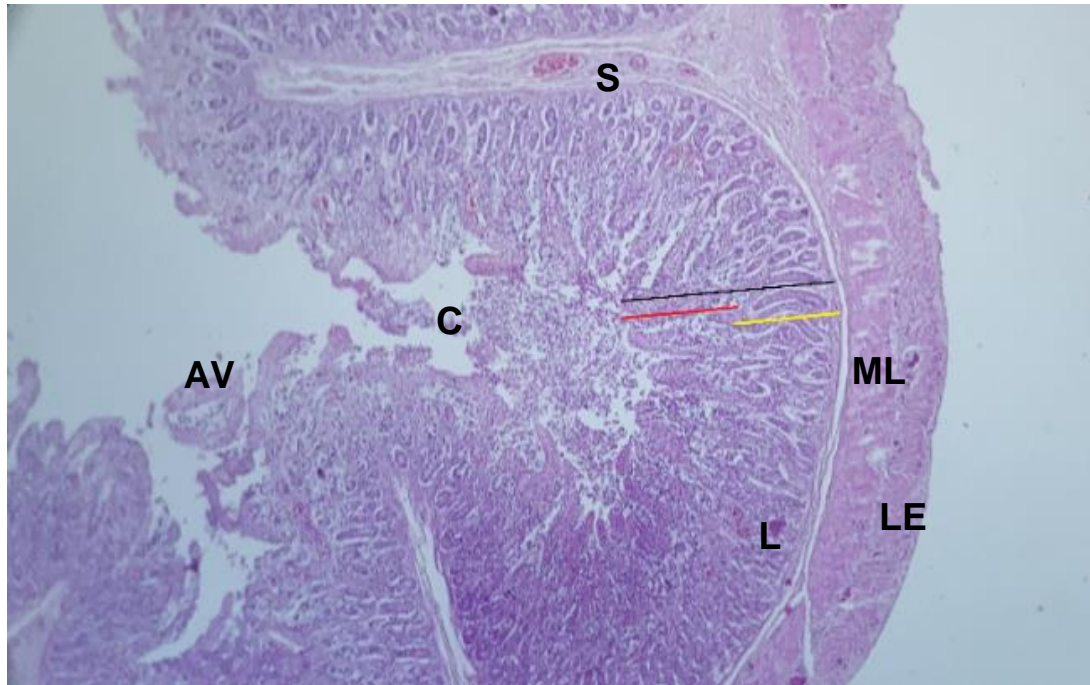


Figura 4: Histopatología Yeyuno

En la Figura 4 se muestra un corte transversal de Yeyuno donde se observan Vellosidades intestinales, células epiteliales cilíndricas simples, criptas intestinales, glándulas de Lieberkuhn (L), submucosa con vasos sanguíneos (S), seguida de músculo liso una circular interna (ML) y otra longitudinal externa (LE) y entre ellas se encuentran plexos nerviosos de Auerbach. En la luz de encuentra exfoliación de células epiteliales con células inflamatorias de apariencia de exudado (C), necrosis en las células epiteliales y atrofia de vellosidades intestinales (AV), La pérdida de proporción en tamaño comparado con las criptas 2:1 y 1:1 (Línea roja vellosidad, Línea amarilla cripta).

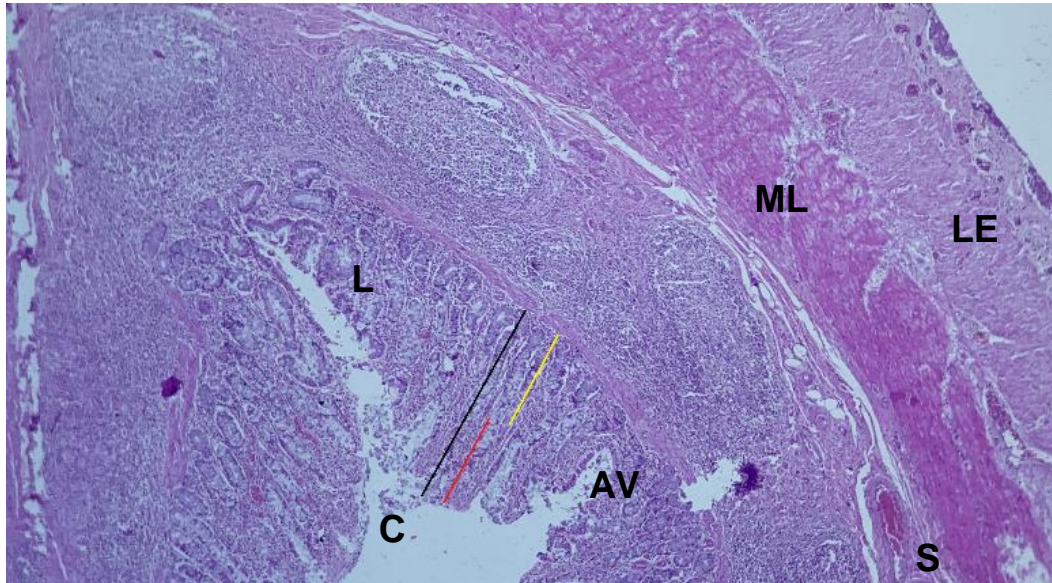


Figura 5: Histopatología Íleon

En la Figura 5, se muestra un corte transversal de Íleon donde se observan Vellosidades intestinales más cortas, célula epiteliales cilíndricas simples mayor presencia de células caliciformes, criptas intestinales, glándulas de Lieberkuhn (L), submucosa con vasos sanguíneos (S), y agrupaciones de linfocitos en forma circular denominados folículos linfoides que constituyen las placas de Peyer, seguida de músculo liso una circular interna (ML) y otro longitudinal externa (LE) y entre ellas se encuentran plexos nerviosos de Auerbach. En la luz de encuentra exfoliación o descamación de células epiteliales necrosadas con células inflamatorias de apariencia de exudado (C), necrosis en las células epiteliales y atrofia de velocidades intestinales (AV), La pérdida de proporción en tamaño comparado con las criptas 2:1 y 1:1 (Línea roja vellosidad, Línea amarilla cripta).

En las Figuras 3, 4 y 5 se observan las lesiones microscópicas observadas en los tres segmentos de intestino delgado: Duodeno yeyuno e Íleon, fueron: pérdida de relación entre vellosidades y criptas, necrosis epitelial, descamación de células necrosadas, presencia de bacterias en ápice de células epiteliales intestinales, congestión, hemorragia y atrofiaciones de vellosidades.

## CAPÍTULO V

### DISCUSIÓN

En el presente trabajo la cepa *E. coli beta hemolítica* causo lesiones en el intestino delgado (duodeno, yeyuno e íleon) a las 96 horas post inoculación en cerdos neonatos lactantes estos resultados son diferentes con lo citado por Canal et al. (1999) donde sus resultados mostraron lesiones entre las 4-6hrs post inoculación de la *E. coli* en cerdos sin calostrar, esta diferencia se puede atribuir a la presencia de portadoras de antígenos fimbriales F4, F5, F6 y F41, al igual que por la presencia de anticuerpos (calostro) transferidos de la madre en comparación a nuestro trabajo. Así mismo Hornich et al. (1975) reporto que sus lechones inoculados con *E. coli* O147 F4 y O101 mostraron lesiones a las 4-6hrs post inoculación, esta diferencia se debe probablemente al animal de experimentación gnotobióticos que son animales con una microbiota conocida, que se han obtenido a partir de animales libres de microorganismos.

Los resultados obtenidos respecto a las lesiones macroscópicas en ambos en sexos se identificaron: deshidratación, diarrea acuosa de color amarillo y gas a nivel intestinal, fueron similares a los reportados por Canal et al. (1999) donde obtuvo lesiones macroscópicas como congestión y abundante contenido acuoso intestinal, así mismo a los reportados por Hornich et al. (1975) donde reporto que las heces eran de color amarillo - grisáceo y acuosas y contenían pequeños coágulos, esta similitud probablemente sea porque se utilizaron la misma bacteria *E. coli*, existiendo variaciones en el grado lesional.

Los resultados obtenidos respecto a las lesiones microscópicas se identificaron en los tres segmentos intestinales (duodeno, yeyuno e íleon), fueron la necrosis de las células del ápex de las vellosidades, la presencia de vacuolas y el infiltrado leucocitario en las vellosidades y lámina propia, siendo similares a los reportados por Hornich et al. (1975) describieron cambios degenerativos y necróticos en las células epiteliales, además de infiltrado inflamatorio en la lámina propia. De igual forma en el trabajo de Faubert & Drolet (1992) se apreció necrosis de las vellosidades, adhesión bacteriana, congestión, trombosis e infiltrados en la lámina propia. Al igual que Palacios et al. (2005), que se apreciaron estructuras basófilas en el ápice de las vellosidades y en las criptas de Lieberkhün, y moderada a severa acumulación de fluido intralumninal, acompañados de moderada a severa hiperemia, la similitud de estos resultados es probablemente al tipo de respuesta por parte del tracto digestivo en cuadros originados por *E. coli* es similar entre diferentes cepas, existiendo variaciones en el grado lesional y no en el tipo de respuesta presente.

## CONTRASTACIÓN DE HIPÓTESIS

Ho: La inoculación vía oral de  $10^8$  a  $10^9$  de *Escherichia coli*  $\beta$ -hemolítica en cerdos neonatos de la raza Pietrain no produce lesiones macroscópicas y microscópicas en el intestino delgado (Duodeno, Yeyuno e Íleon) hasta las 96 horas según sexo post inoculación.

Ha: La inoculación vía oral de  $10^8$  a  $10^9$  de *Escherichia coli*  $\beta$ -hemolítica en cerdos neonatos de la raza Pietrain produce lesiones macroscópicas y microscópicas en el intestino delgado (Duodeno, Yeyuno e Íleon) hasta las 96 horas según sexo post inoculación.

En base a los resultados obtenidos se ha implementado el análisis de varianza (Anexo 3), un valor de significancia ( $p > 0,26$ ) para el caso del sexo no influye significativamente; en tanto que las horas de aplicación definen un valor probabilístico ( $p < 0,01$ ) lo que determina una alta significación de su influencia. Concluyendo que la inclusión de tiempo post inoculación de la bacteria *E. coli beta hemolítica* tiene un efecto a las 96hrs post inoculación. Por lo tanto, se rechaza la hipótesis nula y se acepta la hipótesis alterna.

## CONCLUSIONES

Se concluye que las lesiones post inoculación por la bacteria *E. coli beta hemolítica* en los cerdos neonatos de la raza Pietrain, donde macroscópicamente se identificaron las siguientes lesiones: deshidratación, debilidad y diarrea acuosa de color amarillo y gas a nivel intestinal, anorexia y aletargamiento, y microscópicamente se pudo identificar las siguientes lesiones: necrosis epitelial, descamación de células necrosadas, presencia de bacterias en ápice de células epiteliales intestinales, congestión, hemorragia y atrofas de vellosidades a partir de las 96hrs post inoculación.

Se concluye que las lesiones macro – microscópicas por la bacteria *E. coli beta hemolítica* se pudieron identificar a partir de las 96horas post inoculación en ambos sexos.

Se concluye que las lesiones macro – microscópicas por la bacteria *E. coli beta hemolítica* post inoculación no tiene significación según sexo ya que ambos sexos (macho y hembra) presentan las mismas lesiones.

## RECOMENDACIONES

Se recomienda realizar la inoculación de la cepa *Escherichia coli*  $\beta$  hemolítica en cerdos neonatos sin calostrear con el fin de determinar las lesiones macro y microscópicas para profundizar el estudio de esta bacteria (*Escherichia coli*  $\beta$  hemolítica).

Se recomienda realizar la caracterización molecular de la cepa en estudio para obtener más información adicional de las cepas en estudio.

## REFERENCIA BIBLIOGRÁFICA

- Ballina, G. & Bencomo, A. (2010). Principales enfermedades de los cerdos. Nicaragua: Programa Especial para la Seguridad Alimentaria (PESA).
- Biological D. (2014). McFarland Standard. Dalynn Biological, Catalogue No. TM50-TM60.
- Canal, A. (1997). Identificación de fimbrias en *Escherichia coli* enteropatógeno y caracterización de las lesiones intestinales en cerdos lactantes con diarrea. Tesis, M.Sc., Universidad Austral de Chile, Facultad de Ciencias Veterinarias, Valdivia, Chile.
- Canal, A.; Cubillos, V.; Zamora, J.; Reinhardt, G.; Paredes, E.; Ildfonso, R. & Alberdi A., (1999). Lesiones macro y microscópicas de intestino delgado de cerdos neonatos sin calostrear inoculados experimentalmente con cepas de *E. coli*.
- Carter, G.R. & Cole, J.R.(1992). Procedimientos Diagnósticos en Bacteriología y Micología Veterinaria. Reino Unido: Prensa académica.
- Christensen, G. M. (1992). Enfermedades de los cerdos, Sistema Respiratorio.
- Cortés, Ortiz (2002). Brote causado por *Escherichia coli* en Chalco. Salud Publica Mex 44, 297-302., 44, 297-302.
- Cura, del Ana (2008). Enfermedades entéricas en lechones lactantes, revista consejo de redacción de Cría y Salud en Bovino y Porcino.

- Cura, del Ana (2008). Infecciones por *Escherichia coli* en cerdos, Rev. Consejo de redacción de Cría y Salud en Bovino y Porcino.
- Dirección de Educación Agraria. (2019). Manual de porcinos. Buenos Aires Argentina: Revista El Federal.
- Elanco (2014). Colibacilosis Porcina: Patogenia, síntomas y lesiones, como aspectos clave para su correcto tratamiento. Producción Porcina. Recuperado el 21 de setiembre de 2020, de <https://www.produccionanimal.com/colibacilosis-porcina-atogenia-sintomas-y-lesiones-como-aspectos-clave-para-su-correcto-ratamiento/#>
- Faubert, Claude & Drolet, Richard (1992). Gastroenteritis hemorrágica por *Escherichia bobina* en lechones: Clínico, patológico y hallazgos microbiológicos
- Fox, A. (2008). Bacteriología – capítulo diez, aspectos generales de la patogénesis bacteriana. Microbiología e Inmunología.
- Frasser, C.M.; Bengeron, J.A.; Mays, A. & Susan E. (1993). El Manual Merck de Veterinaria (4ta edición). Merck and Co.
- Gartner, L.P. (2018). Texto de Histología, Atlas a Color. Meryland, USA: Elsevier, 4ta Edicion.
- Gómez, Lucia.; Mar Blanco, E. & Dómenech A. (2007). Manual de Inmunologia Veterinaria. Madrid, España: Paerson, Prentice Hall.
- Gyles, Carrlton L.; Prescott, John F.; Songer, J.G. & Thoen, Chrales O. (2010). Patogenia de las infecciones bacterianas en animales. Arizona, USA: Wiley Blackwell, Fourth edition.

- Gyles, L. C. (1993). Patogenia de las infecciones bacterianas en animales. EEUU: Iowa State University Press / AMES.
- Hirsh, D.C. & Chung Zee, Y. (1999). Veterinary Microbiology. Massachusetts, USA: Blacwell Science, Inc.
- Hornich, M.E.; Salajka, Z.; Sarmanova, L.; Ulmann, M. & Sedlacek. (1975). Cambios histopatológicos producidos por dos cepas enteropatógenas de *Echerichia coli* en lechones gnotobióticos, J. Comp. Path. 85: 277-283.
- Jackson, Peter G. & Cockroft Peter D. (2009). Manual de medicina porcina. Buenos Aires, Argentina: Intermedica.
- LAPISA SA. (2010). Manual de diagnóstico de las enfermedades de los cerdos.
- Layna Riera, Ojeda (2019). Animales libres de patógenos específicos.
- Lopera Giraldo, Juan Fernando (2016). Identificación de lesiones macroscópicas en pulmón compatibles con el Complejo Respiratorio en la especie Porcina, Corporación Universitaria Lasallista Facultad de ciencias administrativas y agropecuarias Medicina Veterinaria.
- Magías Pacheco, Manuel. (2020). Atlas de Histología Vegetal y Animal. España: Depto. de Biología Funcional y Ciencias de la Salud, Facultad de Biología, Universidad de Vigo.
- McOrist Steven. (2014). Infecciones por *E. coli* en cerdos (1 de 2). [https://www.3tres3.com/articulos/infecciones-por-escherichia-coli-en-cerdos-1-de-2\\_34427/](https://www.3tres3.com/articulos/infecciones-por-escherichia-coli-en-cerdos-1-de-2_34427/).

- McOrist, Steven. (2015). Diarrea, vacunación y estrategias de prevención asociadas a *Escherichia coli* en los cerdos, Artículo publicado en la revista Suis nº 120, septiembre 2015. [www.produccion-animal.com.ar](http://www.produccion-animal.com.ar) PV ALBEITAR 37/2015.
- Menjón, Ruth; Jiménez, Marta & Marcial, Marcos (2010). Diarrea Neonatales Patología frecuente & complicada para la producción porcina actual, Servicio Técnico MSD Animal Health.
- Merck. (2010). Merck Microbiology Manual. Alemania: Merck 12th edition.
- Nataro, J.P. & Kaper, J.B. (1998). *Escherichia coli* diarrogénica. Clin Microbiol Rev, 11:142-201.
- Palacios, Cesar E.; Perales, Rosa C.; Chavera, Alfonso C. & López Teresa U. (2005). Caracterización anátomo-histopatológica de enteropatías causantes de mortalidad en crías de alpaca. Rev Inv Vet Perú 2005; 16 (1):34-40
- Paredes, E. & Cubillos, V. (1995). Manual de Necropsia en Animales Doméstico. Santiago de Chile: Universidad Austral de Chile.
- Quiles, A. & Hevia, M.L. (2018). Colibacilosis porcina. Reserch Gate, Universidad d Murcia, 15-22, Nro. 247.
- Rodríguez Angeles, Guadalupe. (2002). Principales características y diagnóstico de los grupos patógenos de *Escherichia coli*. Salud Pública de Mexico, Salud pública Méx vol.44 no.5 Cuernavaca sep. 2002.
- Rodríguez Cajo, Nelly Raquel. (2014). Estudio de un brote de colibacilosis entérica al destete en una granja de cerdos. Lima, Perú: Tesis.

- Rodríguez, de la Fe (2014). Aportes a la epidemiología de enteropatógenos en cerdos jóvenes en Cuba. Revista Anales de la Academia de Ciencia de Cuba, Vol 4 Nro 2 Año 2014.
- Ryan, K.J. & Ray, C.G. (2010). *Sherris Microbiología Médica*. New York, USA: Mc Graw Hill, 5ta. Edición.
- Sainz, T. P. (2001). Supervivencia y caracterización de cepas de *Escherichia coli* en un alimento típico mexicano fermentado con ácido. *Int J Food Microbiol*, 71, 169-76.
- Sanmartin, J.; Martinez, C.; Riu, I., Segundo, R. & Cano, G. (2017). Síndromes colibacilares en gando porcino. Portal Veterinario.
- Scheutz, F.; Strockbine, N.A. & Genero I. (2005). The Proteobacteria Part B The Gammaproteobacteria. *Springer*, 2 (Part B) 607-623.
- Schwartz, K.J. (2011). *Manual de enfermedades del porcino*. Suis. SUIS.
- Thrusfield, R. (1990). *Epidemiología Veterinaria*. Zaragoza, España: Acribia.
- Tizard, Ian. (2013). *Veterinary Immunology*. St. Louis, Missouri, USA: Elsevier Sounders.
- Vargas, J.; Clavo, N. & Mattar S. (2004). Detección de *Escherichia coli* O157: H7 y *Salmonella* spp., en cerdos del departamento de Córdoba. *Revista MVZ*, vol. 9, núm. 1, enero- junio, 2004, pp. 386- 392, Colombia.
- Vidal, Guillermo Ramis (2017). Diarreas neonatales en porcino, Nota: Los gráficos e imágenes proceden del libro "Patologías digestivas porcinas en imágenes.

- Vidal, R.G. & Pallarez, M.F. (2009). Efectos de la vacunación frente a la *E. Coli* en la aparición de lesiones intestinales y presencia de la cepa patogénica de la bacteria. ANAPORC, Año 5, Octubre, Págs. 34 - 37.
- Wenneras C.; Holmgren J. & Svennerholm A.M. (1990). La unión de los antígenos del factor de colonización de *Escherichia coli* enterotoxigénica a las proteínas de la membrana celular intestinal. FEMS Microbiol Lett (66):107-112.
- Yoder, Shawn C.; Jonathan S.; Plotkin V.; Xinfang Ma.; Kelly Shannon K. & Mark S. (2006). Brote de infección por *Escherichia coli* enterotoxigénica con una duración inusualmente larga de la enfermedad. Clin Infect Dis 42, 1513-7



Anexo 2. Recolección de Datos

Animal	Sexo	Inoculación	Inoculado	Cultivo	Duodeno	Yeyuno	Íleon
1	1	1	1	0	0	0	0
2	0	1	1	0	0	0	0
3	1	2	1	0	0	0	0
4	0	2	1	0	0	0	0
5	1	3	1	0	0	0	0
6	0	3	1	0	0	0	0
7	1	4	1	0	0	0	0
8	0	4	1	0	0	0	0
9	1	5	1	1	1	1	1
10	0	5	1	1	1	1	1
11	1	5	0	0	0	0	0
12	0	5	0	0	0	0	0

---

1 = Macho	1 = 12 hrs	1= Si	1 = Positivo	1 = Positivo	1 = Positivo	1 = Positivo
0 = Hembra	2 = 24 hrs	0 = No	0 = Negativo	0 = Negativo	0 = Negativo	0 = Negativo
	3 = 48 hrs					
	4 = 72 hrs					
	5 = 96 hrs					

Anexo 3. Análisis de Varianza

<b>Origen de las variaciones</b>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Probabilidad</i>	<i>Valor crítico para F</i>
<b>Sexo</b>	12.66666667	11	1.151515152	1.357142857	0.260150789	2.258518357
<b>Tratamiento</b>	72.66666667	2	36.33333333	42.82142857	0.00000002599034869	3.443356779
<b>Error</b>	18.66666667	22	0.8484848485			

#### Anexo 4. Necropsias

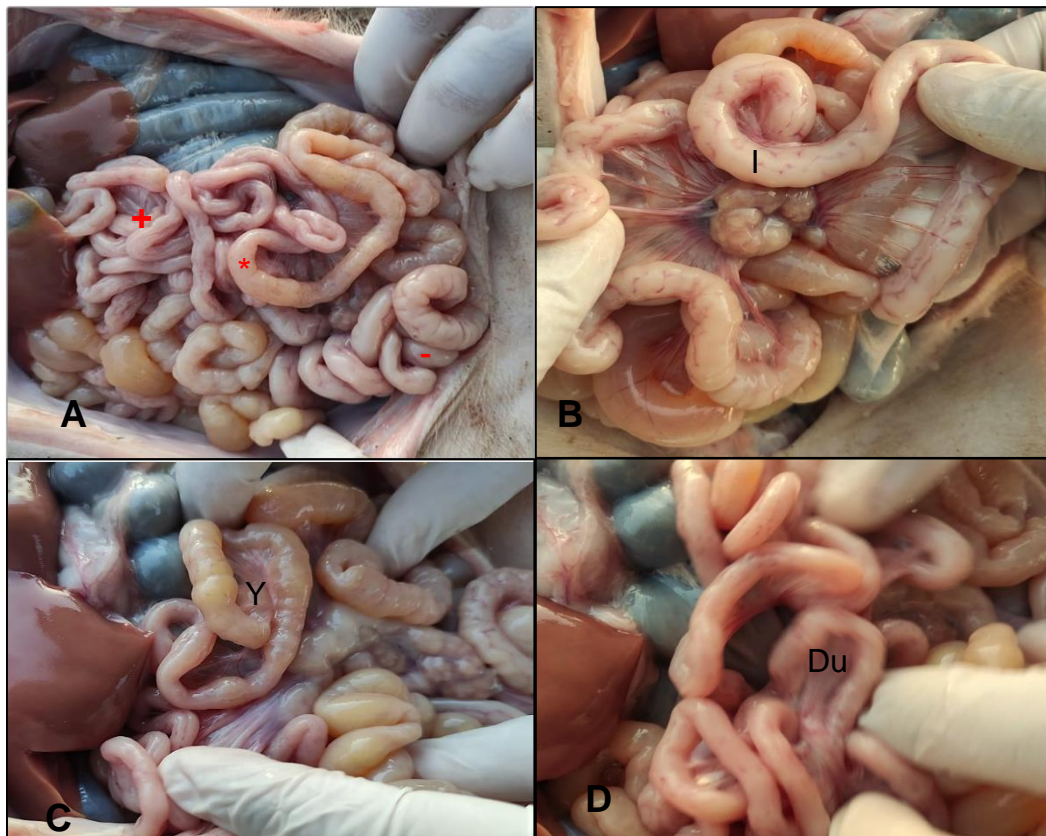


Figura 6. Necropsia de las 12 – 72 horas, (A) Ausencia de lesiones 12 horas en Duodeno (+), Yeyuno (\*) e Íleon (-), (B) ausencia de lesiones 24 horas de Íleon, (C) Ausencia de lesiones 48 horas de Yeyuno, (D) Ausencia de lesiones 72 horas de Duodeno (Du).

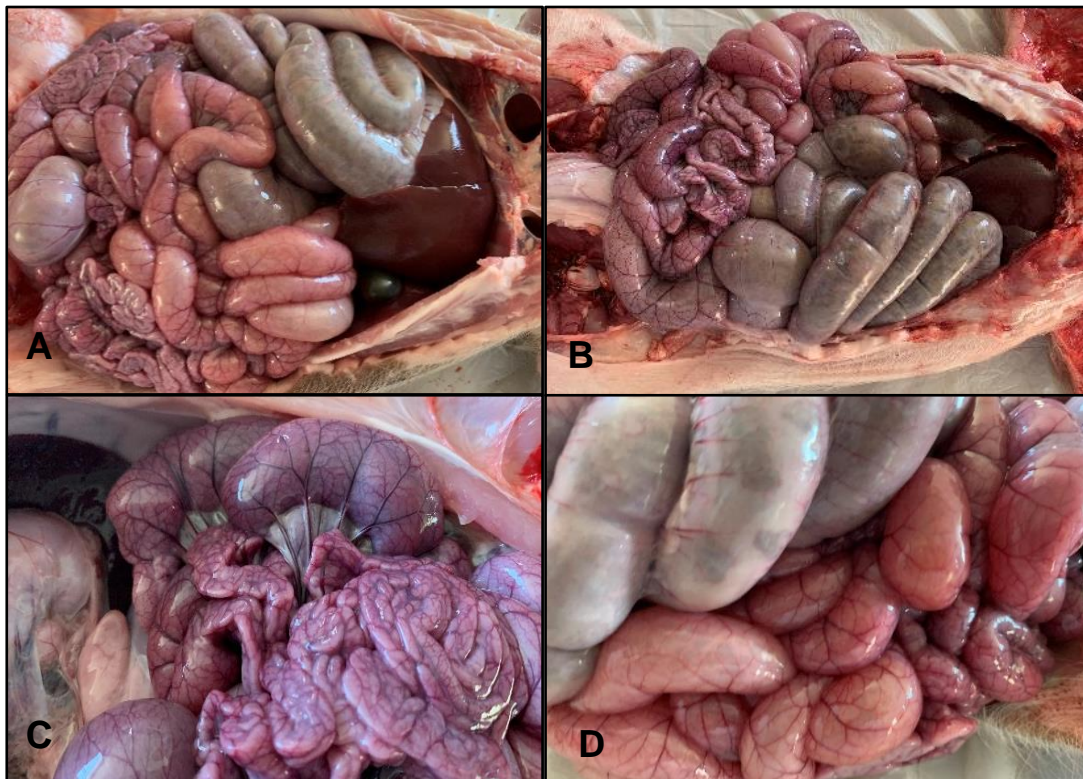


Figura 7. Necropsia a las 96 horas (A y B) Se Identifica las lesiones macroscópicas de duodeno, yeyuno e íleon, en ambos sexos a las 96horas. (C) En mucosa se observa congestión intestinal. (D) Acumulación de sangre en las venas y hemorragias, y presencia de burbujas de gas.

Anexo 5. Histología

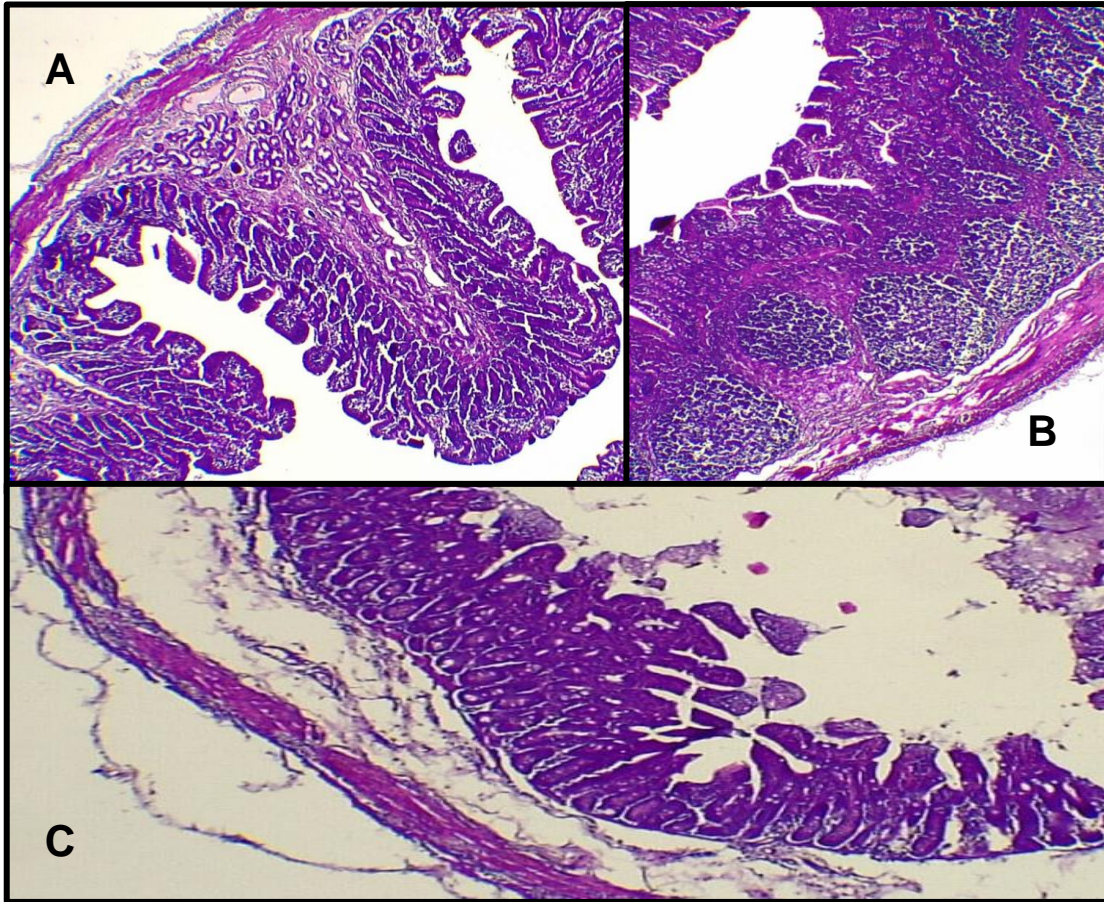


Figura 8. Histología sin cambios morfológicos, Íleon (A), Yeyuno (B) y Duodeno (C).

## Anexo 6. Preparación del inóculo y Soluciones

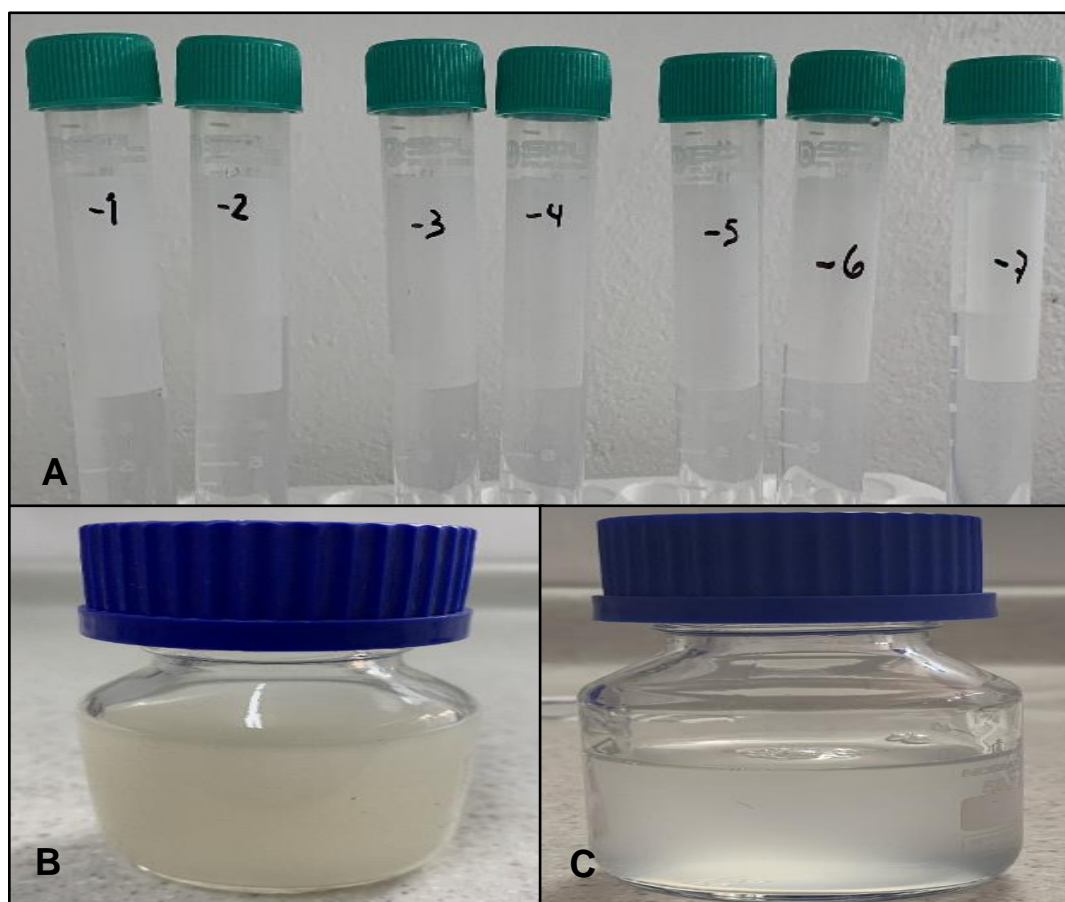


Figura 9. Inoculos y Solución, (A) Diluciones de la solución madre (-1 a -7). (B) Solución Madre: McFarland  $10\ 412 \times 10^7$  /ml UFC. (C) Solución Inóculo: 4.10,38/ml (1ml en 39 de sol fisiol.)

Anexo 7. Constancia del Laboratorio

## **RESULTADOS HISTOPATOLÓGICOS Y MICROBIOLÓGICOS**

El Médico Veterinario Dr. Fernando, Fernández Fernández identificado con Colegiatura Nro: 2352, que suscribe certifica:

Que, el Bachiller MVZ. CANDRO VELA, HAROLD IVAN, de la Escuela Académica profesional de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Nacional Jorge Basadre Grohman, identificado con DNI N°70015935, ha enviado muestras para cultivo y para histopatología, bajo mi supervisión y ayuda para su observación e interpretación, a partir del material biológico constituido por el Intestino Delgado de cerdos neonatos (Duodeno, Yeyuno e Íleon) haciendo un total de 36 muestras.

Muestras que se han procesado en el mes de marzo del 2020.

Se expide la presente constancia, para los fines de presentación y sustentación de su trabajo.

Atentamente.

Dr. Fernando Fernández Fernández

Doctor en Biología Molecular y Biotecnología

M Sc. Poultry Science: Pathology

2da. Especialidad en Laboratorio de Análisis Biológicos: Colegiatura: 2352

Anexo 8. Cepas de *Escherichia coli*  $\beta$  hemolítica

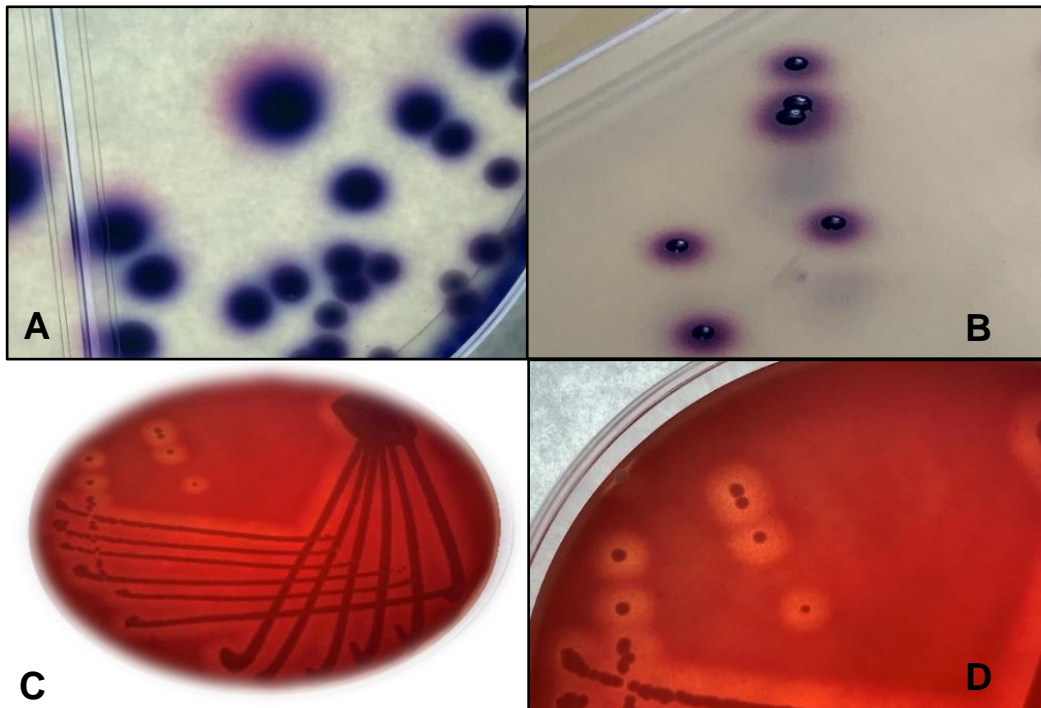


Figura 10. Cepas, (A) Colonia de *E. coli*  $\beta$  hemolítica en Agar Chromocult coliformes ES. (B) Acercamiento de la colonia de *E. coli*  $\beta$  hemolítica en Agar Chromocult coliformes ES. (C) Colonias de *Escherichia coli*  $\beta$  hemolítica en Agar Sangre. (D) Colonias  $\beta$  hemolíticas de *E. coli*

Anexo 9. Relación Vellosidades Intestinales: Criptas por parte del intestino

DUODENO

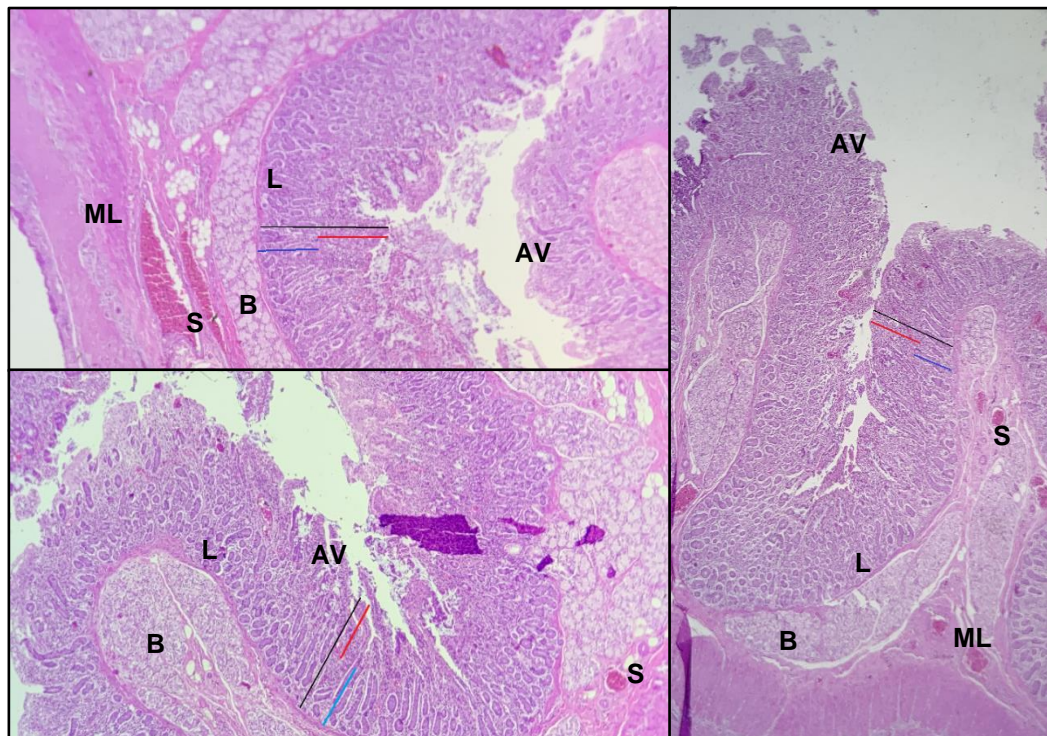


Figura 11. Se observan criptas intestinales Duodeno, glándulas de Lieberkuhn (L), submucosa con vasos sanguíneos (S) y glándulas de Bruner (B), seguida de musculo liso circular interna (ML) y debajo de estos plexos nerviosos de Auerbach. Las células epiteliales se muestran con necrosis lo que determina la atrofia de vellosidades intestinales (AV), La pérdida de proporción en tamaño comparado con las criptas 2:1 y 1:1 (Línea roja vellosidad, Línea celeste cripta).

## YEYUNO

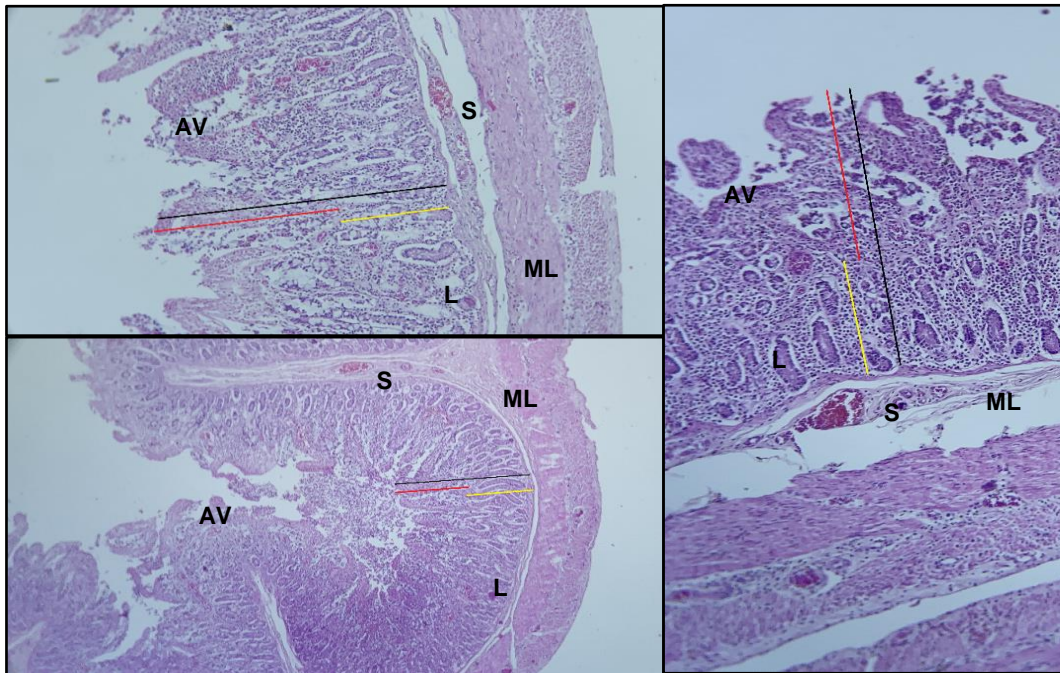


Figura 12. Se observan criptas intestinales Yeyuno, glándulas de Lieberkuhn (L), submucosa con vasos sanguíneos (S), seguida de músculo liso circular interna (ML) y debajo de estos plexos nerviosos de Auerbach. Las células epiteliales se muestran con necrosis lo que determina la atrofia de velocidades intestinales (AV), La pérdida de proporción en tamaño comparado con las criptas 2:1 y 1:1 (Línea roja vellosidad, Línea amarilla cripta).

## ÍLEON

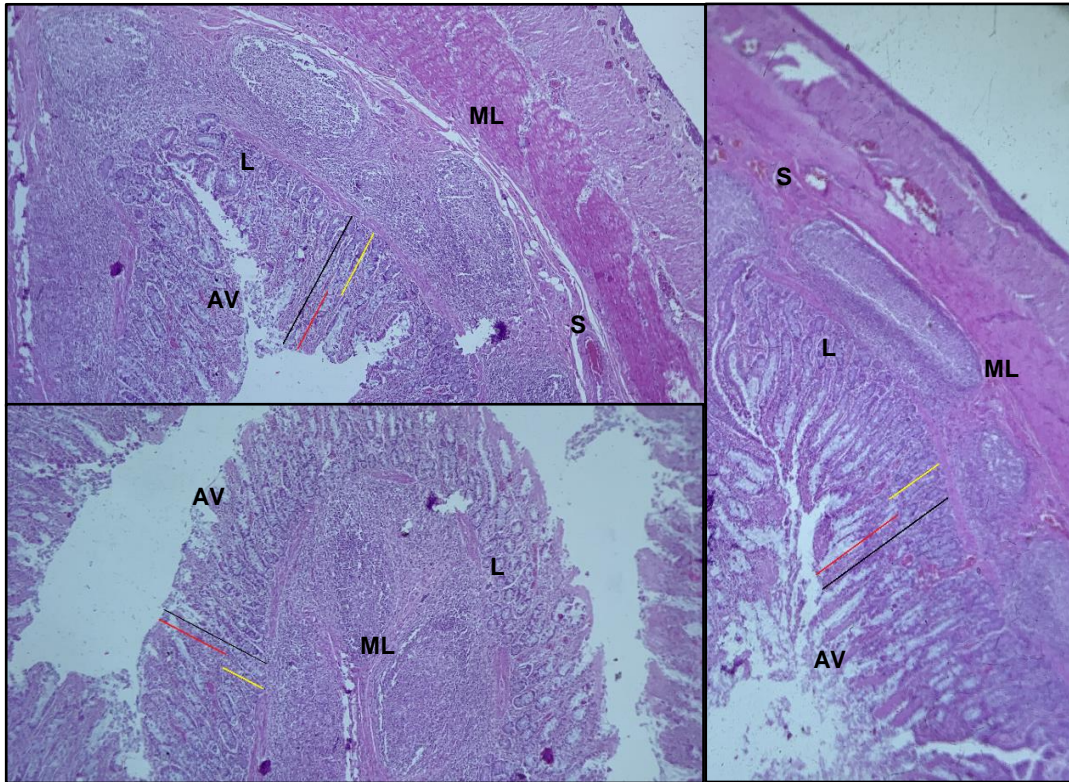


Figura 13. Se observan criptas intestinales Íleon, glándulas de Lieberkuhn (L), submucosa con vasos sanguíneos (S), seguida de musculo liso circular interna (ML) y debajo de estos plexos nerviosos de Auerbach. Las células epiteliales se muestran con necrosis lo que determina la atrofia de velocidades intestinales (AV), La pérdida de proporción en tamaño comparado con las criptas 2:1 y 1:1 (Línea roja vellosidad, Línea amarilla cripta).

Anexo 10. LESIONES DE INTESTINO:

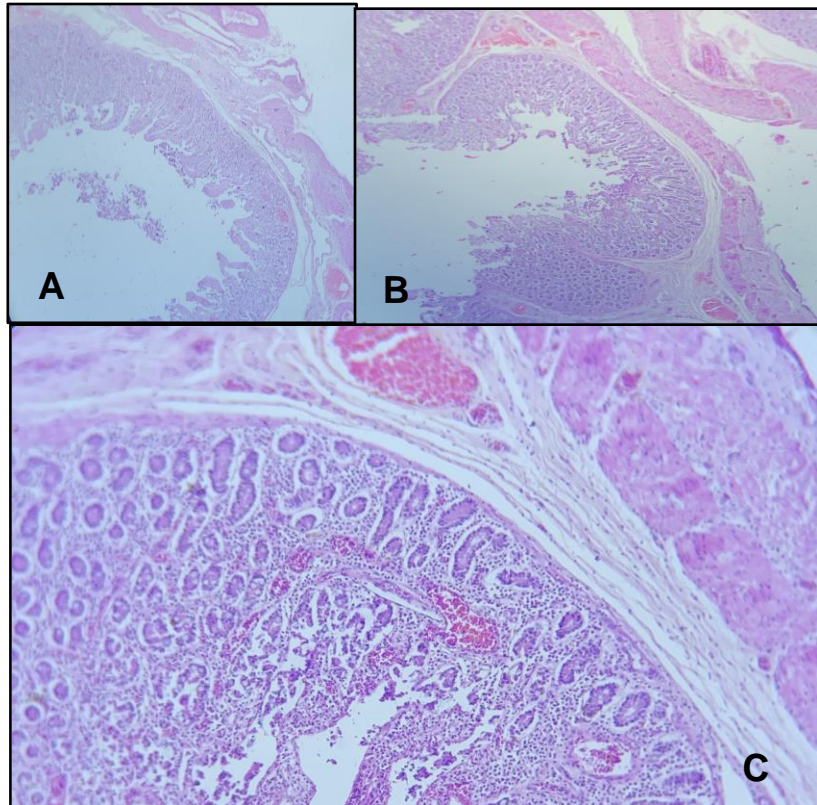


Figura 14. Lesiones en intestino (A) Necrosis epitelial y descamación epitelial. (B) Congestión en submucosa. (C) Congestión venosas.

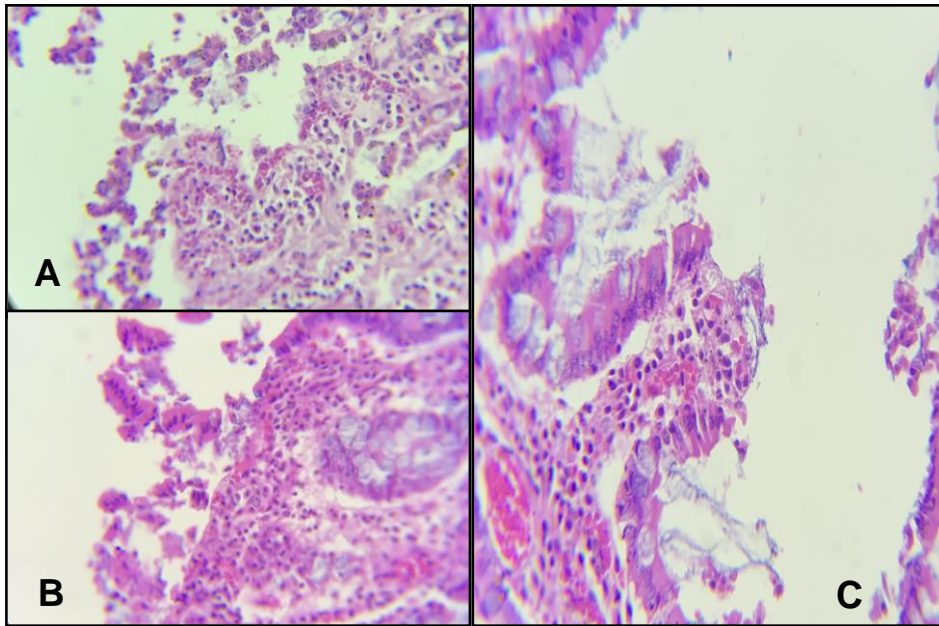


Figura 15. Lesiones de vellosidad intestinal (A) Hemorragia y necrosis epitelial. (B) Presencia de bacterias en ápices celulares, necrosis. (C) Atrofia de vellosidad intestinal, necrosis epitelial.