

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO
DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL
DEPARTAMENTO DE PRODUCCIÓN ANIMAL



Clostridiosis en cerdos

Por:

PEDRO MENDOZA LEVARIO

MONOGRAFÍA

Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

Torreón, Coahuila

Marzo, 2021

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO
DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL
DEPARTAMENTO DE PRODUCCIÓN ANIMAL

Clostridiosis en cerdos

Por:

Pedro Mendoza Levario

MONOGRAFIA

Que se somete a la consideración del H. Jurado Examinador como requisito parcial para obtener el título de:

MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

Aprobada por:


MC. Silvestre Moreno Avalos
Presidente


IZ. Héctor Manuel Estrada Flores
Vocal


MC. Gerardo Aroldano Rodríguez
Vocal


MC. Carlos Raúl Rascón Díaz
Vocal Suplente


MC. J. Guadalupe Rodríguez Martínez
Coordinador de la División Regional de Ciencia Animal

Torreón, Coahuila, México

Marzo, 2021

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO
DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL
DEPARTAMENTO DE PRODUCCIÓN ANIMAL

Clostridiosis en cerdos

Por:

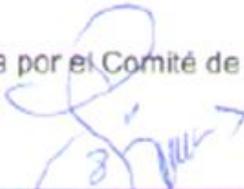
Pedro Mendoza Levario

MONOGRAFIA

Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

Aprobada por el Comité de Asesoría:

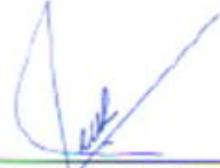


MC. Silvestre Moreno Avalos
Asesor Principal



IZ. Héctor Manuel Estrada Flores

Coasesor



MC. Gerardo Arellano Rodríguez

Coasesor



MC. J. Guadalupe Rodríguez Martínez
Coordinador de la División Regional de Ciencia Animal

Torreón, Coahuila, México

Marzo, 2021

AGRADECIMIENTOS

A dios y a mis padres por todo el apoyo.

A la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro por la educación que me brindo.

DEDICATORIAS

A mi familia y amigos.

RESUMEN

En la producción porcina, *Clostridium perfringens* tipo A y C y *Clostridium difficile* son los responsables de los problemas digestivos más recurrentes en lechones.

Clostridium perfringens tipo C se caracteriza por ser más invasivo que el tipo A ocasionando una destrucción intestinal regulada por toxinas denominada enterotoxemia de los lechones.

Clostridium difficile agente etiológico de la enteritis neonatal o también llamada diarrea enzootica neonatal provoca diarrea en lechones alrededor de los 3 a 5 días de nacidos. Cabe destacar que continúan estudios para informar de la aparición del tipo 078 en otros animales, así como vías de transmisión conocidas como antropozoonosis y zoonosis inversa.

Palabras clave: *Clostridium perfringens* tipo A, *Clostridium perfringens* tipo C, *Clostridium difficile*, Cerdos, Antropozoonosis, Clostridiosis.

INDICE DE CONTENIDO

AGRADECIMIENTOS.....	i
DEDICATORIAS.....	ii
RESUMEN.....	iii
INTRODUCCION.....	1
ENTEROTOXEMIA DE LOS LECHONES.....	3
Etiología.....	4
Patogenia.....	5
Signos.....	8
Hiperagudo.....	8
Agudo.....	8
Subagudo.....	8
Crónico.....	9
Lesiones.....	9
Diagnóstico.....	13
Tratamiento.....	15
Control y prevención.....	15
ENTERITIS NEONATAL EN LECHONES.....	17
Etiología.....	18
Patogenia.....	19
Signos.....	19
Lesiones.....	20
Diagnostico.....	22
Tratamiento.....	23
Control y prevención.....	23
REFERENCIAS.....	25

INDICE DE ILUSTRACIONES

Ilustración 1 Marcada distensión del mesocolon se debe a la acumulación de fluido plasmático en el intersticio (edema) (CIAP, Sf).	3
Ilustración 2 Patogenia de <i>C. perfringens</i> tipo C y A (Carvajal y Rubio, 2009).	5
Ilustración 3 Hipótesis de la patogénesis de la enteritis por <i>Clostridium perfringens</i> tipo C en los cerdos.	6
Ilustración 4 Presentación clínica y patológica típica de la enteritis necrótica aguda (EN) en lechones.	10
Ilustración 5 Asas intestinales llenas de un contenido líquido y hemorrágico se relacionan con una infección por <i>Clostridium perfringens</i> tipo C en lechones lactantes (CIAP, Sf).	12
Ilustración 6 Numerosos bacilos portadores de esporas en el lumen del intestino delgado, la estructura morfológica de los enterocitos no se ve afectada. HE tinción (Collins et al., 1989).....	12
Ilustración 7 cultivos de <i>Clostridium perfringens</i> tipo C.....	13
Ilustración 8 Tabla 1 Diagnóstico diferencial de enterotoxemia de los lechones. ...	15
Ilustración 9 Edema del mesocolon (Yaeger et al., 2007).	20
Ilustración 10 Lesiones microscópicas observadas en el colon de lechones positivos a la toxina <i>C. difficile</i> (TCd);.....	21
Ilustración 11 Lechón de cuatro días con lesiones macroscópicas sugestivas de infección por <i>Clostridium difficile</i> , con edema prominente del mesocolon (Songer et al., 2000).....	22

INTRODUCCION

La presencia de problemas sanitarios en animales de temprana edad es un período crucial para los lechones y se halla caracterizada por una elevada presencia de problemas gastrointestinales, baja ganancia de peso y poca vitalidad, provocada principalmente por la presencia de patógenos (Zeyner, 2006).

En la actualidad dentro de las enfermedades diarreicas de naturaleza infecciosa se consideran el efecto patológico de uno o varios agentes en conjunto: virus entéricos (Rotavirus, Coronavirus, Calicivirus, Adenovirus, virus de la diarrea epidémica porcina, entre otros); parásitos protozoarios (*Isoospora suis* y *Criptosporidium spp*) y agentes bacterianos como *E. coli* enteropatógena (K88, K99, 897P y F41); *Salmonella spp* (mayor aislamiento *S. choleraesuis* y *S. typhimurium*), *Clostridium perfringens* tipo C y A, *Yersinia enterocolitica*, entre otros) (INTA, 2010).

Los *Clostridios* como causa etiológica de diarreas en lechones lactantes son en estos momentos muy prevalentes. En los Laboratorios de Diagnóstico Veterinario (LDV) de USA se están diagnosticando cada vez más casos por *Clostridios* que por las cepas de *E. coli ETEC*. En el LDV de la Universidad de Illinois en el 2008, el 37% de las diarreas de los lechones menores de 5 días se diagnosticaron como *infecciones clostridiales*, un 15% por infecciones de *E.coli ETEC*, 12% por *vTGE* y un 9% por *Rotavirus*. En lechones de más de 5 días de vida la *coccidiosis* se lleva la palma con un 40%, pero las *infecciones clostridiales* son el 21% (Lamana, S.f).

Los clostridios son bacterias grandes, grampositivos, formadores de esporas, anaeróbicas estrictamente tolerantes al oxígeno. Las enfermedades entéricas causadas por estos organismos impactan a los productores, médicos veterinarios y diagnosticadores, a pesar de disponibilidad a largo plazo de productos inmunoprolácticos para protección contra algunas especies y tipos. *Clostridium perfringens* tipos A y C y *Clostridium difficile* son los principales clostridios patógenos de cerdo (Sanger & Uzal, 2005).

Clostridium perfringens es un bacilo grampositivo, anaerobio bacilo fermentador, formador de esporas, que puede encontrarse en el medio ambiente, pero es más común que forme parte de la microbiota de los seres humanos y los animales. La bacteria se considera un patógeno entérico común; sin embargo, la patogénesis y los factores predisponentes de la enfermedad pueden diferir entre especies (Silva *et al.*, 2015).

La enfermedad causada por *C. perfringens* tipo A tiende a ser más leve, menos dramática y más prolongada pero se puede parecer a la enfermedad causada por *C. perfringens* tipo C (Carvajal y Rubio, 2009).

Clostridiasis Tipo C Enfermedad bacteriana caracterizada por destrucción intestinal mediada por toxinas, causante de diarrea sanguinolenta en lechones menores de una semana de edad y altos índices de mortalidad. Generada por un bacilo Gram positivo formador de esporas (estructuras altamente resistentes al calor y desinfectantes) y anaerobio denominado *Clostridium perfringens* tipo C (LAPISA,SF.).

Clostridium difficile es una causa establecida de diarrea asociada a antibióticos y colitis pseudomembranosa en humanos y animales domésticos y de laboratorio. Los hallazgos diagnósticos apoyan el papel de *C. difficile* en la enteritis neonatal de cerdos (Songer *et al.*, 2000).

Clostridium difficile es un patógeno entérico que afecta a una variedad de mamíferos, recientemente se ha diagnosticado como causa de tiflocolitis neonatal en cerdos. La virulencia más importante de *C. difficile* son 2 grandes exotoxinas, la toxina A (TcdA) y la toxina B (TcdB) (Keel & Songer, 2007).

A continuación se describen las especies de *clostridium* generadoras de cuadros diarreicos en lechones conocidas como clostridiasis.

ENTEROTOXEMIA DE LOS LECHONES

Las enfermedades causadas por *Clostridium perfringens* se presentan como una enteritis aguda o crónica de lechones también son conocidas como enfermedad por clostridios, enteritis hemorrágica etc. (Carvajal y Rubio, 2009).

Diarrea infecciosa de alta mortalidad, afecta con mayor frecuencia a recién nacidos de 1 a 5 días aunque puede producirse en cerditos de hasta tres semanas de vida. Es causada por una bacteria (*Clostridium perfringens* tipo C y A) es una bacteria Gram-positiva, que puede permanecer en el medio ambiente en estado vegetativo o en forma de spora. Las esporas pueden soportar ser congeladas y ser hervidas; en medio ambiente pueden conservarse viables a lo largo de un año. El germen origina exotoxinas letales y altamente necrosantes que causan disentería con poca respuesta a los tratamientos con antibióticos (INTA, 2010).



Ilustración 1 Marcada distensión del mesocolon se debe a la acumulación de fluido plasmático en el intersticio (edema) (CIAP, Sf).

Etiología

Maaji et al., (2020) menciona a Kiu y Hall (2018):Sanger, (1996) quienes clasifican al *C. perfringens* en siete cepas: A, B, C, D, E, F y G. Por otro lado Silva et al., (2015) informan de que los signos clínicos de la diarrea clostridial en los cerdos son similares a los de otras enfermedades entéricas causadas por *E. coli* enterotoxigénica *E. coli*, *Cryptosporidium* spp., *Salmonella enterica* y *Staphylococci* spp.

La palabra clostridio viene del latín moderno *Clostridium*, está formado por la voz griega *kloster* (vástago, cuerpo alargado, cilíndrico), más el sufijo griego *idion* (varilla diminuta).

Clostridium es un Gram positivo de gran tamaño que produce esporas. Se halla presente en el intestino de todos los cerdos. Se multiplica a gran velocidad y producen toxinas que matan rápidamente al hospedador.

Las especies de *C. perfringens* tipos A o C pueden, bajo determinadas condiciones, producir una grave diarrea con alta mortalidad en lechones. El tipo C es, con diferencia, el más importante. Ambos tipos entran en el intestino delgado y se acantonan antes de que el lechón consuma el calostro, lo que puede dar lugar a la enfermedad. Los lechones normalmente se infectan antes de los 7 días de edad y sobretodo en las primeras 24-72 horas de vida. El tipo C puede derivar en una enfermedad crónica en lechones de 2 a 6 semanas de edad (Carvajal y Rubio, 2009).

Los lechones se exponen al microorganismo por las heces de la madre que contienen baja cantidad de clostridios, los cuales se multiplican rápidamente en el yeyuno de la cría. Una vez que el intestino está colonizado, las bacterias producen toxinas potentes que necrosan las vellosidades intestinales (muerte celular) y producen la signología clínica (LAPISA, Sf.).

Se encuentra en el suelo y en el intestino de todos los cerdos. Cuando se produce una herida profunda o un traumatismo tisular, si el organismo está presente puede multiplicarse rápidamente y genera toxinas que producen gas y mata al huésped rápidamente (Carvajal y Rubio, 2009).

Patogenia

Su mecanismo patogénico fundamental es la formación de toxinas de diversos tipos que se encuentran entre los venenos más potentes que se conocen. Son proteínas con buena capacidad antigénica por lo que las vacunas aplicadas en forma de toxoides tienen una eficacia muy alta (LAPISA, Sf.: Carvajal y Rubio, 2009).

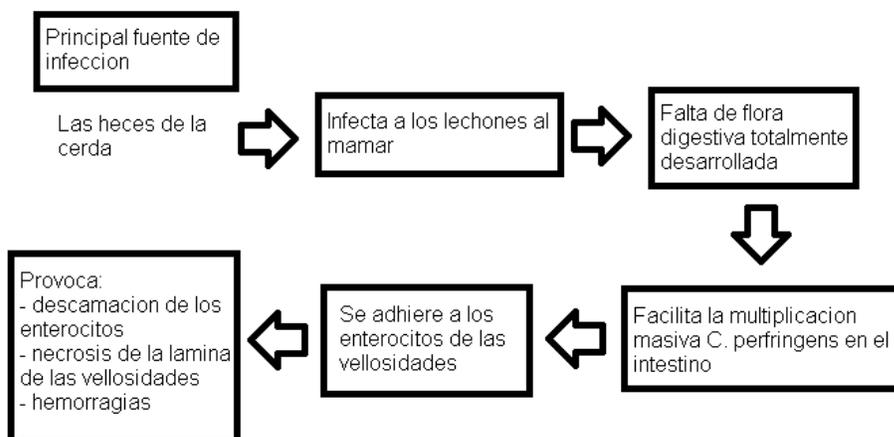


Ilustración 2 Patogenia de *C. perfringens* tipo C y A (Carvajal y Rubio, 2009).

Los lechones se exponen al microorganismo por las heces de la madre que contienen baja cantidad de clostridios, los cuales se multiplican rápidamente en el yeyuno de la cría. Una vez que el intestino está colonizado, las bacterias producen toxinas potentes que necrosan las vellosidades intestinales (muerte celular) y producen la signología clínica (LAPISA, Sf.: Carvajal y Rubio, 2009).

La patogénesis implica un rápido crecimiento de *C. perfringens* tipo C en el intestino delgado, la inhibición de la degradación de la beta-toxina (CPB) por los inhibidores de la tripsina en el calostro de las cerdas, y muy probablemente un daño inicial en la barrera epitelial del intestino delgado. La propia CPB actúa principalmente en las células endoteliales vasculares de la mucosa y también puede inhibir la función de las plaquetas.

Las cepas de *Clostridium perfringens* tipo C se definen por llevar los dos genes de la toxina tipificadora *cpa* (que codifica para la α -toxina o CPA) y *cpb* (que codifica

para la β -toxina o CPB). Además algunas cepas pueden ser portadoras del gen *cpe*, que codifica para la enterotoxina (CPE). Las cepas de tipo C pueden producir varias otras toxinas que, sin embargo, no se utilizan para la tipificación, como la toxina $\beta 2$ (CPB2), la perfringolisina (PFO) y la gran toxina clostridial Tpel.2,56. *C. perfringens* tipo C causa una enteritis necrótica (EN) aguda y grave en el ganado (Posthaus *et al.*, 2020).

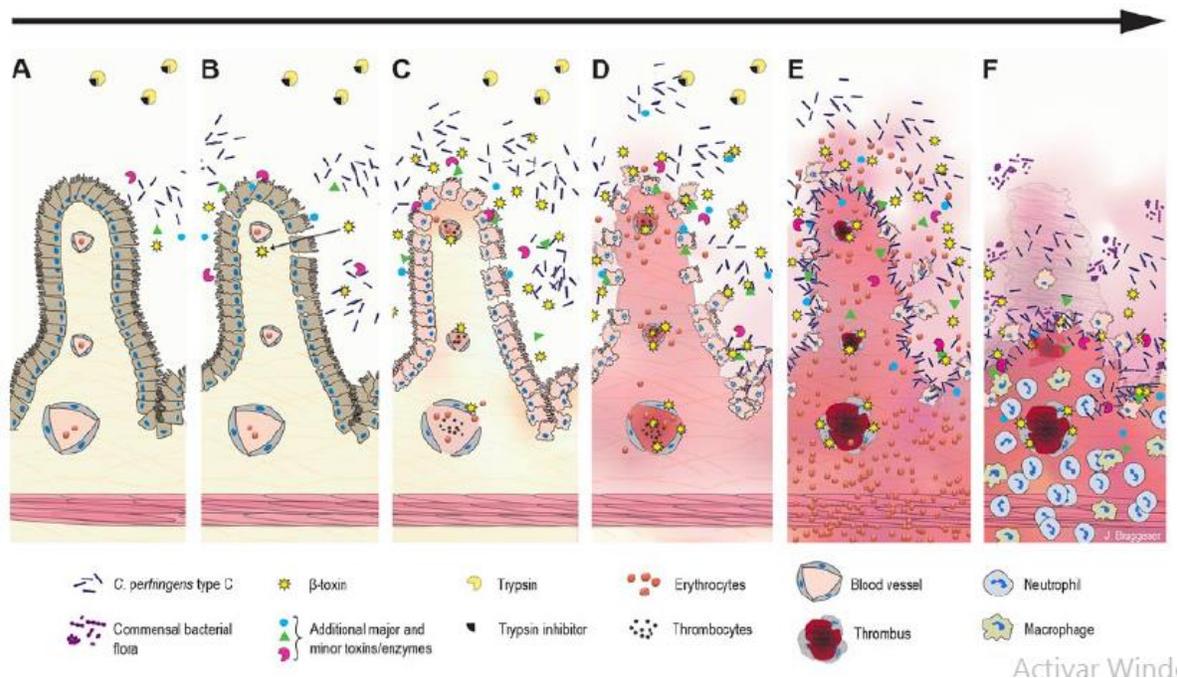


Ilustración 3 Hipótesis de la patogénesis de la enteritis por Clostridium perfringens tipo C en los cerdos.

- A. La enfermedad comienza con la colonización, la rápida proliferación de *C. perfringens* tipo C, y la secreción de toxinas en el lumen yeyunal.
- B. El daño epitelial inicial o la irritación pueden ser causados por toxinas secretadas y/o el entorno luminal alterado. Los inhibidores de la tripsina en el calostro impiden la degradación de la beta-toxina de *C. perfringens* (CPB), que puede pasar la barrera epitelial y difundirse en la lámina propia.
- C. CPB en las células endoteliales conduce rápidamente a un aumento de la permeabilidad de los vasos en la lámina propia con extravasación de fluidos, proteínas plasmáticas y eritrocitos. Además, la CEC podría afectar a la función

plaquetaria e interferir con la hemostasia primaria, promoviendo la fuga vascular. La barrera epitelial se interrumpe aún más por la necrosis de las células epiteliales. Los componentes sanguíneos y las células necróticas se acumulan en la luz intestinal.

D. Se acelera el crecimiento de los clostridios y la producción de toxinas se aceleran. Se desarrolla un círculo vicioso de hemorragia inducida por la CEC, necrosis tisular, crecimiento acelerado de clostridios y secreción de toxinas se desarrolla.

E. La fase peracuda de la lesión puede desarrollarse en las horas siguientes a los efectos iniciales: la hemorragia y la necrosis progresan rápidamente progresan desde el sitio inicial del daño en el yeyuno. A continuación, se produce una trombosis vascular generalizada en la lámina propia y la submucosa. Además, las toxinas de la luz intestinal pueden ser absorbidas en la circulación sistémica y causar enterotoxemia.

F. La fase subaguda de la enfermedad se desarrolla en los casos en los que el daño agudo inicial fue menos grave y no causó la muerte. Los neutrófilos se infiltran en la zona bajo la mucosa necrótica. Las bacterias adicionales presentes en el tracto intestinal pueden proliferar, dando lugar a cultivos bacterianos mixtos.

(Posthaus *et al.*, 2020).

Se sabe que la toxina beta (CPB) es un factor de virulencia esencial en el desarrollo de las lesiones de *Clostridium perfringens* tipo C en diferentes especies animales. Todavía no se han definido claramente sus células diana ni el mecanismo exacto de toxicidad. Se evaluó la idoneidad de un modelo de asa yeyunal de lechón neonatal para investigar las lesiones tempranas de la enteritis por *C. perfringens* tipo C.

Inmunohistoquímicamente, se detectó CPB en las células endoteliales microvasculares de las vellosidades intestinales durante las etapas tempranas y avanzadas de lesiones inducidas por *C. perfringens* tipo C. Esto se asoció primero

con la dilatación de los capilares y posteriormente con la hemorragia generalizada en el intestino afectado.

Hemorragia generalizada en los segmentos intestinales afectados. Sin embargo, no se demostró la presencia de CPB en las células epiteliales intestinales. Esto indica un tropismo de la CPB hacia las células endoteliales y sugiere que el daño endotelial inducido por la CPB juega un papel importante en las primeras etapas de *C. perfringens* tipo C en cerdos. (Schumacher et al., 2013).

Signos

Existen cuatro cursos de la enfermedad, dependiendo del perfil inmunológico en la pira, por lo que infecciones epizoóticas son posibles y severas.

Hiperagudo

- Los neonatos mueren a las 12-36 horas de edad, con o sin presentación de diarrea hemorrágica
- Enteritis necro hemorrágica severa.

Agudo

- Diarrea teñida de rojo con restos de tejido necrótico.
- Deshidratación
- La pared intestinal está engrosada y enfisematosa (burbujeante).
- Mucosa intestinal está necrótica y hay peritonitis fibrinosa. Suele presentarse en lechones de 2-3 días de edad.

Subagudo

(signos y lesiones menos severas)

- Diarrea amarillenta con restos de tejido necrótico.
- La condición corporal disminuye día a día, aumentando la deshidratación.
- La muerte puede presentarse de los días 5-7 de edad.
- Necrosis en la mucosa observada como una membrana desde la serosa del intestino.
- Pared intestinal engrosada y friable (frágil).

Crónico

- Diarreas intermitentes de color gris-amarillentas y contienen moco.
- Los animales no se ven tan enfermos como en los otros cursos, sin embargo, las mortalidades se pueden presentar semanas después de los primeros signos.
- Necrosis leve en la mucosa del intestino. (LAPISA, Sf.)

El cuadro sobreagudo se caracteriza por la aparición de una diarrea hemorrágica, aunque también pueden aparecer animales muertos en los que todavía no ha dado tiempo a instaurarse ésta, produciéndose la muerte de los lechones dentro de las primeras 12 - 36 horas de vida (Ramis, 2017).

Lesiones

En la necropsia podemos observar la presencia de un fluido sanguinolento en la cavidad abdominal y la pared del intestino delgado aparece hemorrágica, con burbujas de gas y con sangre en la luz, siendo el yeyuno e íleon los tramos de intestino más afectados, aunque a veces también puede afectarse la parte más proximal del colon. Los nódulos linfáticos mesentéricos aparecen enrojecidos (Ramis, 2017).

La lesión distintiva de la EN es la necrosis mucosa profunda y segmentada de la mucosa con una marcada hemorragia en el intestino delgado. En la ilustración 4 se puede observar el proceso patogénico que se lleva a cabo en los órganos de los lechones.

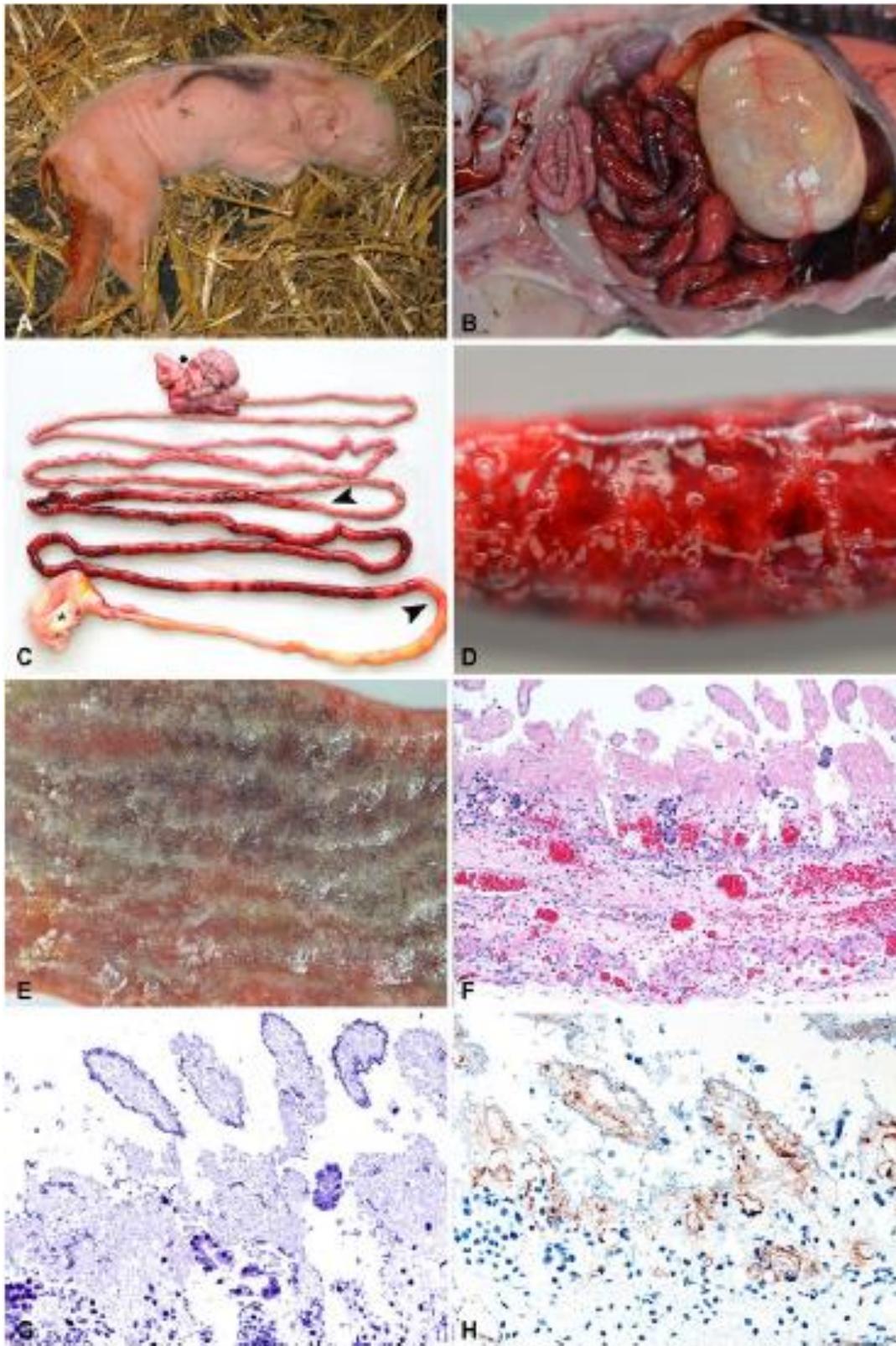


Ilustración 4 Presentación clínica y patológica típica de la enteritis necrótica aguda (EN) en lechones.

A. Lechón de 1 día con diarrea hemorrágica. (Fotografía por cortesía de H. Nathues, Clínica de Porcino, Facultad de Veterinaria, Universidad de Berna).

B. Lesiones macroscópicas típicas de la enteritis hemorrágica hemorrágica en un lechón de 1 día.

C. Hemorragia segmentaria típica y yeyunitis necrotizante (entre las puntas de flecha). Asterisco = estómago; punto = colon.

D. Pared intestinal hemorrágica con formación de burbujas de gas.

E. Mucosa de un caso agudo de NE. Nótese que las vellosidades intestinales aparecen blancas, que es una combinación de necrosis y autólisis. La hemorragia subyacente es claramente visible.

F. Aspecto histológico típico de la NE peraguda-aguda NE en un lechón de 1 día que murió espontáneamente. Las vellosidades están necrosadas y autolíticas, con hemorragia aguda en zonas más profundas de la lámina

Propia y submucosa. Reacción inflamatoria de escorzo a escorzo. (Reproducido con permiso.21) 200x.

G. Tinción de Gram de la misma muestra que el panel F mostrando vellosidades necróticas y autolíticas cubiertas de bastones grampositivos. 400x.

H. Detección inmunohistoquímica de *Clostridium perfringens* (CPB) en los vasos de la lámina propia y la submucosa en un caso agudo de EN. (Reproducido con permiso.42) 400x.

(Posthaus *et al.*, 2020).

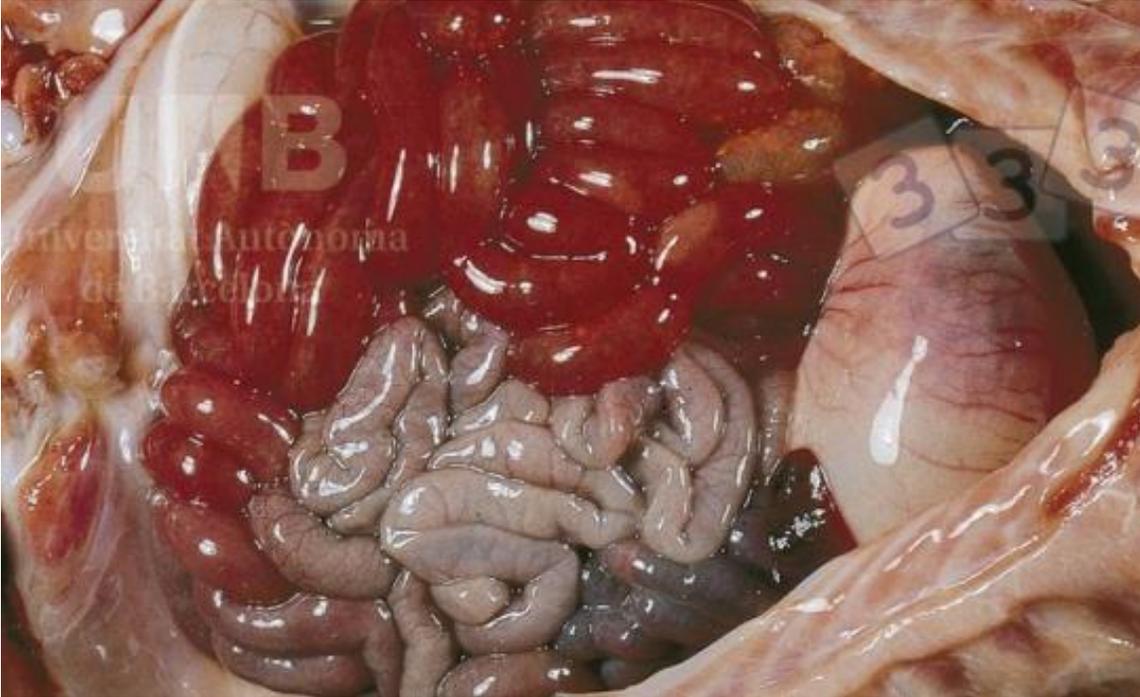


Ilustración 5 Asas intestinales llenas de un contenido líquido y hemorrágico se relacionan con una infección por Clostridium perfringens tipo C en lechones lactantes (CIAP, Sf).

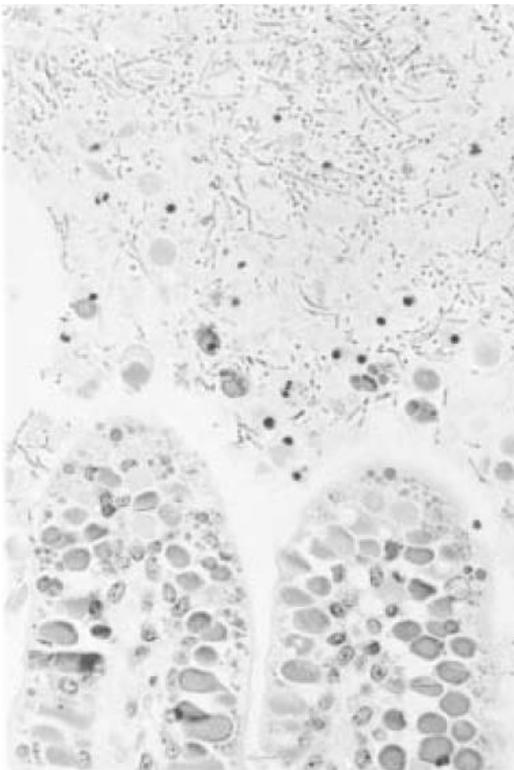


Ilustración 6 Numerosos bacilos portadores de esporas en el lumen del intestino delgado, la estructura morfológica de los enterocitos no se ve afectada. HE tinción (Collins et al., 1989).

Diagnóstico

Clostridium perfringens tipo C causa una enteritis necrótica (EN) grave y letal en los lechones recién nacidos. La EN se diagnostica mediante una combinación de investigaciones patológicas y bacteriológicas (Posthaus *et al.*, 2020).

En la forma subaguda y crónica puede ser más complejo y suele ser necesario diferenciarlo de otras causas de enteritis necrótica, principalmente de la causada por *C. perfringens* tipo A, mediante el aislamiento e identificación en el laboratorio.

También se puede realizar mediante la detección de ADN de *C. perfringens* con la PCR a partir de contenido intestinal.

El diagnóstico de la enteritis por *Cl. perfringens* tipo C es sencillo en la forma aguda. La edad de los lechones afectados y el cuadro clínico y lesional son muy orientativos (Carvajal y Rubio, 2009).

En la ilustración 7 se observa:

A. Colonias de *C. perfringens* tipo C tras 24 horas de incubación anaeróbica a 37°C en agar sangre de Brucella (BD). La zona exterior de hemólisis parcial está marcada con una flecha.

B. Colonias amarillas típicas de *C. perfringens* tipo C tras 24 h incubación anaeróbica a 37°C en agar mCP (Thermo Fisher Scientific).

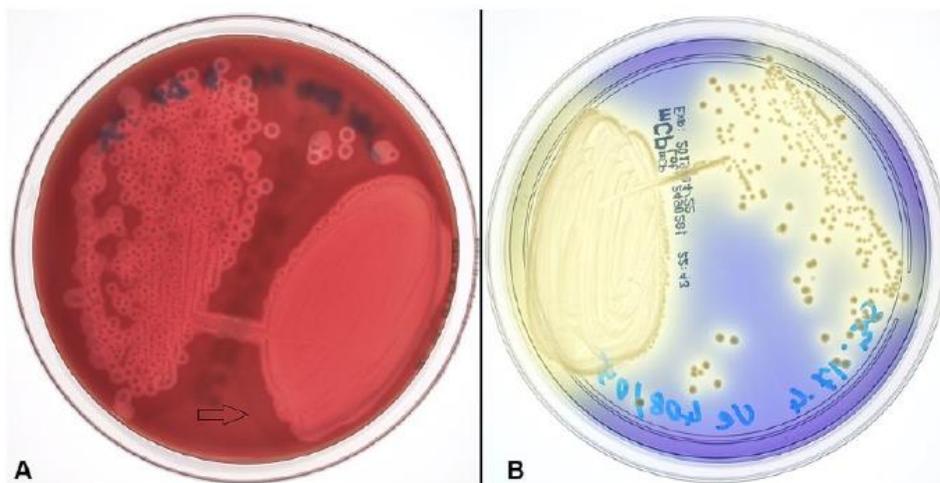


Ilustración 7 cultivos de *clostridium perfringens* tipo C.

(Posthaus *et al.*, 2020).

El *Clostridium perfringens* tipo C, que produce α - y ptoxicina, provoca graves enteritis hemorrágicas y necróticas en animales y humanos. Se ha desarrollado un ensayo de reacción en cadena de la polimerasa (PCR) para la detección específica de los genes que codifican la α -, β - y E- y la enterotoxina de *C. perfringens* para la tipificación rápida de cepas de *C. perfringens*, y especialmente para la identificación de cepas de tipo C. Tanto los genes de la α - como de la p-toxina fueron detectados directamente en cultivos de *C. perfringens* tipo C y también en cepas de colección de tipo B y C con una sensibilidad de 10^1 células sin purificación del ADN. El gen de la α -toxina se detectó en todos los tipos de *C. perfringens*. El gen de la β -toxina se encontró en el tipo B y en el tipo D, y el gen de la enterotoxina en algunas cepas del tipo A.

Otras nueve especies de *Clostridium* y una variedad de bacterias patógenas intestinales no mostraron señal para estos genes de toxina en este ensayo de PCR. El ensayo de PCR de los genes de la toxina α - y β se utilizó para identificar las cepas de *C. perfringens* aisladas del contenido intestinal de 36 lechones necropsiados que habían muerto repentinamente o que habían muerto después de presentar signos premonitorios de diarrea. En la necropsia, 20 lechones presentaban enteritis necrotizante (15 casos agudos y 5 crónicos) y se sospecha que han sufrido una infección por *C. perfringens* tipo C. Todos ellos tenían *C. perfringens* que dio una señal positiva de PCR para los genes α - y β -toxina, y, por tanto, fueron identificados como cepas de tipo C. De los otros 16 lechones con lesiones distintas de la enteritis necrotizante, se aislaron cepas de *C. perfringens* con el gen de la α -toxina, pero sin el gen de la ptoxicina. Los resultados de la necropsia y la anamnesis mostraron una muy buena correlación con la identificación por PCR de los genes de la toxina (Buogo et al., 1975).

Diagnóstico diferencial

Por la etapa de producción en la que aparecen las diarreas clostridiales, los principales diferenciales son gastroenteritis transmisible (GET), diarrea epidémica porcina (DEP), rotavirus, coccidiosis y estrongiloidiasis.

Tiflocolitis neonatal	Diarrea pastosa amarillenta, disnea
Coccidiosis	Diarrea pastosa amarillenta liquida
Rotavirus	Diarrea acuosa, pH acido
Salmonelosis	Diarrea acuosa o pastosa

Ilustración 8 Tabla 1 Diagnóstico diferencial de enterotoxemia de los lechones.

(Carvajal y Rubio, 2009).

C. perfringens puede aislarse de muestras intestinales en intestinales en los casos agudos, pero es más difícil identificar las cepas patógenas en los casos subagudos y crónicos. La toxinotipificación o la genotipificación para diferenciar las cepas de *C. perfringens* tipo C de las cepas comensales tipo A (Posthaus *et al.*, 2020).

Tratamiento

El tratamiento en la enteritis causadas por *Cl. perfringens* tipo C es muy poco eficaz. En la forma aguda, la mortalidad es tan rápida que no da tiempo a instaurar el tratamiento y en la forma subaguda y crónica, las lesiones de la mucosa intestinal son difícilmente recuperables (Carvajal y Rubio, 2009).

Control y prevención

La higiene de las parideras y el lavado de la ubre de las cerdas contribuyen a dificultar la infección de los lechones y pueden darse tratamientos preventivos a las cerdas lactantes con ampicilina o amoxicilina para prevenir la infección de los lechones.

También se pueden emplear estos antibióticos y las cefalosporinas de forma preventiva administrándoselos por vía oral a los lechones durante los tres primeros días de vida.

No obstante, la medida de profilaxis más importante y con mejor relación coste/beneficio es la vacunación de las cerdas con toxoides. Como indicábamos, las toxinas clostridiales son proteínas de alto peso molecular y, por tanto, buenos

inmunógenos y la vacunación de las madres induce anticuerpos que se transfieren a los lechones por el calostro y les dan una protección muy elevada (Carvajal y Rubio, 2009).

La prevención de la enfermedad se consigue mediante la inmunización de las cerdas preñadas con vacunas de toxoide de *C. perfringens* tipo C, combinada con un saneamiento adecuado en las explotaciones. Para la aplicación de estrategias de prevención, es importante diferenciar entre el estado libre de enfermedad y el estado libre de patógenos de un rebaño.

Este último es más difícil de mantener, dado que *C. perfringens* tipo C puede persistir durante mucho tiempo en el medio ambiente y en el tracto intestinal de los animales adultos y, por tanto, puede distribuirse a través de animales portadores clínica y bacteriológicamente inaparentes (Posthaus *et al.*, 2020).

ENTERITIS NEONATAL EN LECHONES

Enteritis neonatal o también conocida como Diarrea enzoótica neonatal, es producida por el *Clostridium difficile* que es, en la actualidad, un patógeno emergente en la sala de partos. Este provoca una diarrea a los cuatro días postparto (3-5 días) en los lechones lactantes. La diarrea es de color amarillento y líquida, muy típica, lo que les provoca una grave deshidratación, la morbilidad es muy alta alrededor del 10 % de las camadas, en cerdas primerizas llega al 70%, intracamada todos los lechones están afectados por la diarrea. La mortalidad es baja una media del 2%, pero las consecuencias para toda la camada son una pérdida de peso considerable al destete, alrededor de 1 kg por lechón, algunos lechones no pueden ir a las salas de destete por su deficiente estado y hay que sacrificarlos (Lamana, Sf).

La infección natural de los cerdos por *C. difficile* se notificó por primera vez en 1983, es así como *C. difficile* ha surgido en las zonas de producción porcina como una causa importante de enfermedad entérica en lechones neonatos (Knight *et al.*, 2015).

Clostridium difficile se considera un importante agente causal de la diarrea neonatal porcina, tomado el relevo de los patógenos bacterianos clásicos. Sin embargo, actualmente no hay datos claros sobre la prevalencia de este microorganismo en los lechones, ni sobre sus distribuciones relativas entre los animales diarreicos y no diarreicos (Alvarez-Perez *et al.*, 2009).

Squire *et al.*, (2013) menciona a Songer y Anderson (2006) quienes reconocen al *Clostridium difficile* como el agente causante de la enteritis grave ("socavación") en lechones neonatos de 1 a 7 días de edad en todo Canadá, Estados Unidos y Europa. Aunque las muertes atribuibles a la infección por *C. difficile* (CDI) suelen ser escasas debido a la buena gestión ganadera, los lechones que sobreviven a la CDI siguen teniendo una media del 10%-15% de bajo peso y tardan más tiempo en destetarse.

Etiología

Clostridium difficile causa enteritis neonatal en lechones; las cepas del ribotipo 078 de la PCR son las más comúnmente identificadas (Squire et al., 2013).

Durante los últimos 5 años, se ha convertido en una de las principales causas de enteritis neonatal en cerdos. Los lechones de 1 a 7 días de edad se ven afectados, con lesiones macroscópicas que suelen incluir edema mesocolónico.

Más de un tercio de los lechones con enteritis pueden ser la causa incontrolada más importante de diarrea neonatal en los cerdos. *C. difficile* solo, mientras que una cuarta parte adicional de los lechones afectados pueden haber tenido infecciones mixtas. *C. difficile* (Songer y Anderson, 2006).

La medicina veterinaria ha destacado el papel de los animales como reservorios de *C. difficile*, así como sus implicaciones zoonóticas y su patogenicidad en diferentes especies animales, principalmente en équidos y cerdos.

Clostridium difficile es una bacteria omnipresente en el ambiente y ha sido reconocida como un importante patógeno emergente tanto en humanos como en animales. *C. difficile* es también la causa más importante de diarrea asociada a los antimicrobianos y la diarrea asociada a los antimicrobianos en los seres humanos (Alvarez-Perez et al., 2009).

Avbersek et al., (2009) cita a Kelly y LaMont (1998) quienes describen que el *Clostridium difficile* es un bacilo anaerobio Gram-positivo, formador de esporas bacilo ambiental que se conoce como un importante patógeno bacteriano de los seres humanos. Las cepas toxigénicas de *C. difficile* son patógenos nosocomiales bien reconocidos, responsables de la diarrea asociada a los antibióticos y de la diarrea asociada a los antibióticos y colitis pseudomembranosa.

El solapamiento recientemente notificado entre los aislamientos de animales, carne al por menor de animales, de carne al por menor y de seres humanos sugiere que los animales pueden ser un reservorio y la infección por *C. difficile* una zoonosis. La tipificación de los microorganismos puede ser útil para la caracterización de las cepas y epidemiológicas. Se han utilizado diferentes

enfoques moleculares para la tipificación de *C. difficile*, aunque el ribotipo por PCR la electroforesis en gel de campo pulsado (PFGE) y el toxinotipado son los más de los animales (Avbersek et al., 2009).

Patogenia

Los atributos de virulencia pueden incluir pili, cápsula y enzimas de degradación, pero la producción de toxinas es esencial. Las toxinas A (307 kDa) y B (270 kDa) de *C. difficile* son las mayores toxinas bacterianas descritas hasta la fecha, y son miembros de la familia de las llamadas "grandes toxinas clostridiales". La primera es una enterotoxina que provoca la acumulación de líquido en el intestino, y la segunda es una citotoxina altamente citopática para las células cultivadas. Ambas toxinas son internalizadas por las células objetivo y alteran el citoesqueleto mediante un ataque enzimático a objetivos intracelulares. El cese de la síntesis de proteínas y de la división celular va seguido de la exfoliación de los enterocitos. La degranulación de los mastocitos de la mucosa y la liberación de mediadores inflamatorios provoca un influjo de granulocitos, lo que provoca un daño tisular considerable (Borriello, 1998).

En el único estudio que aborda la patogénesis de la infección por *C. difficile* en cerdos, las preparaciones crudas de toxinas A y B tuvieron un efecto mínimo cuando se administraron en las asas colónicas de los cerdos. Sin embargo, la concentración inadecuada de la toxina en el inóculo, la dilución de la toxina en el segmento colónico o la interferencia de la flora u otros materiales en la acción de la toxina pueden haber influido en los resultados (Sisk et al., 1998).

Está claro que es necesario volver a examinar el efecto de las toxinas A y B en el intestino del cerdo, utilizando toxinas crudas y purificadas de alto título y cultivos de *C. difficile* (Songer et al., 2000).

Signos

Entre los principales signos en lechones encontramos: diarrea líquida típica amarillenta-anaranjada, deshidratación grave, emaciación, anorexia, no van a mamar, fiebre, lechones afectados de 3 a 5 días de vida, ascitis disnea, a veces estrés respiratorio y distensión abdominal (Lamana, Sf).

En los lechones, los signos de la enfermedad suelen comenzar poco después del parto. La pérdida de peso severa o la anorexia son comunes, y puede haber una mortalidad significativa (hasta el 16%) (Knight *et al.*, 2015).

Lesiones

El contenido del colon puede ser de color pastoso a acuoso y amarillo, aunque algunos lechones están estreñidos. Se observa supuración focal y necrosis segmentaria en el examen microscópico de la lámina propia cecal y colónica, y exudación de neutrófilos y fibrina. En la luz da lugar a las llamadas lesiones volcánicas (Songer y Anderson, 2006).



Ilustración 9 Edema del mesocolon (Yaeger et al., 2007).

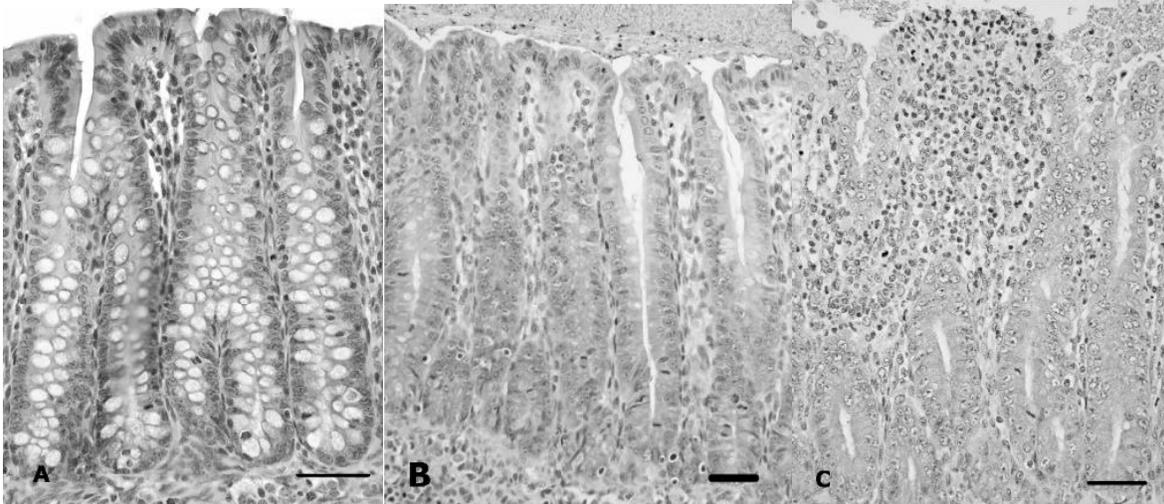


Ilustración 10 Lesiones microscópicas observadas en el colon de lechones positivos a la toxina C. difficile (TCd);

A, colon normal.

B, marcada pérdida de células caliciformes con leve aumento de la actividad mitótica de la cripta.

C, un infiltrado de neutrófilos en la lámina propia superficial con pérdida del epitelio subyacente (barra de 5 50 mm) (Yaeger et al., 2007).

Los cerdos afectados presentan una diarrea pastosa y amarilla, pero algunos pueden estar estreñidos o incluso obstruidos. El intestino delgado no está afectado. El edema mesocolónico es común, aunque no es patognomónico. Infiltración focal de neutrófilos en la mucosa colónica, y la erosión epitelial de la mucosa o ulceración son característicos. La exudación de neutrófilos en el lumen colónico forma la característica "lesión de volcán volcán". Al igual que las cepas humanas de *C. difficile*, la mayoría de cepas porcinas producen tanto TcdA como TcdB (Anderson y Songer, 2008).



Ilustración 11 Lechón de cuatro días con lesiones macroscópicas sugestivas de infección por Clostridium difficile, con edema prominente del mesocolon (Songer et al., 2000).

Diagnostico

El diagnóstico de la enfermedad asociada a Clostridium difficile (CDAD) en cerdos neonatos se realiza, en parte, mediante la detección de las toxinas A (TcdA) y B (TcdB) en las heces o el contenido del colon.

El diagnóstico exhaustivo de la DAC porcina incluye la historia clínica, la patología macroscópica y patología, cultivo bacteriológico, detección de TcdA y/o TcdB en las heces o el contenido del colon. La toxina es la principal prueba de diagnóstico confirmatorio de la DAC para las muestras obtenidas antemortem o postmortem. La toxina para células de ovario de hámster chino (CHO) es el método de referencia, pero antes comparamos los resultados de del ensayo de citotoxicidad con los de un inmunoensayo enzimático comercial (Tox A/B; TechLab, Blacksburg, VA, EE.UU.) (Anderson y Songer, 2008).

En el estudio de Keel *et al.*, (2007) Se identificaron cuatro ribotipos de PCR en cerdos: 002, 033, 126 y en su mayoría el ribotipo 078 representando el 83% de los animales muestreados.

La prueba inmunoensayo enzimático (EIA) se considera adecuada como ayuda para el diagnóstico de la enteritis por *C. difficile* debido a la alta correlación entre los resultados de la EIA y los del ensayo de citotoxicidad del cultivo de tejidos (Post *et al.*, 2002).

Los animales son portadores de *C. difficile* en el momento del sacrificio, y la contaminación de las canales se produce dentro del matadero (Rodríguez *et al.*, 2013).

Tratamiento

El tratamiento con antimicrobianos y el uso de probióticos han dado resultados principalmente insatisfactorios, pero el disalicilato de metileno de bacitracina puede ser útil para la prevención. La falta de productos inmunoprolácticos disponibles en el mercado puede hacer que los productores recurran a bacterinas/toxinas autógenas, pero su eficacia es incierta (Songer *et al.*, 2000).

Control y prevención

Clostridium difficile PCR ribotipo 078 se encuentra cada vez más como patógeno humano en enfermedades nosocomiales y, en particular, asociadas a la comunidad (Limbagó *et al.*, 2007; Goorhuis *et al.*, 2008b). De hecho, el ribotipo 078 de la PCR fue el tercer tipo común aislado en 2005 en los Países Bajos (Paltansing *et al.*, 2007). Las cepas de *C. difficile* que se han aislado de cerdos holandeses enfermos productores de alimentos de los Países Bajos, que eran indistinguibles de las aisladas de pacientes holandeses en términos de identidad genética, producción de toxinas y la sensibilidad a los antimicrobianos. Los Países Bajos están relativamente poblados por personas y animales. Por lo tanto, es de gran importancia para la salud pública obtener una visión epidemiológica sobre la aparición y los posibles patrones de la CDI hipervirulenta a partir de animales asintomáticos o enfermos, tanto en grandes como en pequeños rebaños, a los humanos a través del contacto directo, los alimentos o el medio ambiente, como una enfermedad zoonótica. Por otro lado, no estamos informados de la aparición del tipo 078 en otros animales, en el medio ambiente y en la cadena alimentaria (animal). La transmisión entre humanos y animales (antropozoonosis) o de los

humanos a los animales solamente (zoonosis inversa), sin embargo, es también una posibilidad intrigante de investigar (Debast et al., 2009).

Zhang et al., (2019) hace mención de los hallazgos de Krutova et al., (2018):Keessen et al., (2013):Goorhuis et al., (2008) que basándose en el parentesco clonal de los aislados procedentes de lechones en Europa, Taiwán y Japón, se sugirió una posible vía de transmisión de *C. difficile* RT078 a través del comercio de lechones.

Las relaciones evolutivas y epidemiológicas exactas entre las cepas de *C. difficile* RT078 de los seres humanos y los animales siguen siendo desconocidas debido a la falta de poder discriminatorio de los métodos actuales de tipificación de cepas. Los métodos estándar de genotipado ya ponen de manifiesto la similitud genética entre las cepas de *C. difficile* RT078 humanas y animales y proyectan un aumento de la transmisión zoonótica.

La adición de pruebas para *C. difficile* y PRRSV a un de rutina para el diagnóstico de la diarrea neonatal dio lugar a un aumento significativo de la tasa de éxito del diagnóstico, tanto en los animales individuales como en los casos tanto en animales individuales como en casos (Yaeger *et al.*, 2002).

REFERENCIAS

- Alvarez-Perez, S., Blanco, J. L., Bouza, E., Alba, P., Gibert, X., Maldonado, J., & Garcia, M. E. 2009. Prevalence of *Clostridium difficile* in diarrhoeic and non-diarrhoeic piglets. *Veterinary microbiology*, 137(3-4), 302-305.
- Anderson, M. A., & Songer, J. G. 2008. Evaluation of two enzyme immunoassays for detection of *Clostridium difficile* toxins A and B in swine. *Veterinary microbiology*, 128(1-2), 204-206.
- Avbersek, J., Janezic, S., Pate, M., Rupnik, M., Zidaric, V., Logar, K. & Ocepek, M. 2009. Diversity of *Clostridium difficile* in pigs and other animals in Slovenia. *Anaerobe*, 15(6), 252-255.
- Borriello SP. 1998. Pathogenesis of *Clostridium difficile* infection. *J Antimicrob Chemother*. 41 (Suppl C):13–19.
- Buogo, C., Capaul, S., Häni, H., Frey, J., & Nicolet, J. 1995. Diagnosis of *Clostridium perfringens* type C enteritis in pigs using a DNA amplification technique (PCR). *Journal of Veterinary Medicine, Series B*, 42(1-10), 51-58.
- Carvajal, A. y Rubio, P. 2009. Clostridiosis. https://www.3tres3.com/enfermedades/clostridium-perfringens_24.
- Centro de Informacion de Actividades Porcinas (CIAP). Atlas de patología Enfermedades Bacterianas *Clostridium perfringens*. <http://www.ciap.org.ar/Sitio/Archivos/Atlas%20de%20patologia%20Enf%20Bact%20Clostridium.pdf>
- Collins, J. E., Bergeland, M. E., Bouley, D., Ducommun, A. L., Francis, D. H., & Yeske, P. 1989. Diarrhea associated with *Clostridium perfringens* type A enterotoxin in neonatal pigs. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 1(4), 351-353.
- Debast, S. B., Van Leengoed, L. A., Goorhuis, A., Harmanus, C., Kuijper, E. J., & Bergwerff, A. A. 2009. *Clostridium difficile* PCR ribotype 078 toxinotype V found in

diarrhoeal pigs identical to isolates from affected humans. *Environmental microbiology*, 11(2), 505-511.

Goorhuis, A., Debast, S.B., Van Leengoed, L.A.M.G., Harmanus, C., Notermans, D.W., Bergwerff, A.A., and Kuijper, E.J. 2008a *Clostridium difficile* PCR ribotype 078: an emerging strain in humans and in pigs? *J Clin Microbiol* **46**: 1157–1158.

INSTITUTO NICARAGÜENSE DE TECNOLOGÍA AGROPECUARIA (INTA). 2010. Principales Enfermedades de los Cerdos. Consultado diciembre 2020. <http://www.fao.org/3/as540s/as540s.pdf>

Keel, K., Brazier, J. S., Post, K. W., Weese, S., & Songer, J. G. 2007. Prevalence of PCR ribotypes among *Clostridium difficile* isolates from pigs, calves, and other species. *Journal of clinical microbiology*, 45(6), 1963-1964.

Keel, M. K., & Songer, J. G. 2007. The distribution and density of *Clostridium difficile* toxin receptors on the intestinal mucosa of neonatal pigs. *Veterinary pathology*, 44(6), 814-822.

Keessen EC, Hensgens MP, Spigaglia P, Barbanti F, Sanders IM, Kuijper EJ2013et al. Antimicrobial susceptibility profiles of human and piglet *Clostridium difficile* PCR-ribotype 078. *Antimicrob Resist Infect Control*.; 2:14. Epub 2013/04/10 PubMed Central PMCID: PMC3651393. <https://doi.org/10.1186/2047-2994-2-14> PMID: 23566553

Kiu, R., Hall, L. J., 2018: An update on the human and animal enteric pathogen *Clostridium perfringens*. *Emerg. Microbes Infect.*, 7, 141. DOI: 10. 1038/s41426-018-0144-8.

Knight, DR, Squire, MM y Riley, TV. 2015. El estudio de vigilancia a nivel nacional de *Clostridium difficile* en cerdos recién nacidos australianos muestra una alta prevalencia y heterogeneidad de los ribotipos de PCR. *Microbiología aplicada y ambiental* , 81 (1), 119-123.

Krutova M, Zouharova M, Matejkova J, Tkadlec J, Krejci J, Faldyna M. 2018. The emergence of *Clostridium difficile* PCR ribotype 078 in piglets in the Czech Republic clusters with *Clostridium difficile* PCR ribotype 078 isolates from

Germany, Japan and Taiwan. *Int J Med Microbiol.*; 308(7):770–5. Epub 2018/06/04. <https://doi.org/10.1016/j.ijmm.2018.05.006> PMID: 29859665.

Lamana, J.M. Sf. El *Clostridium difficile* asociado a diarrea, un patógeno emergente en lechones lactantes. http://axonveterinaria.net/web_axoncomunicacion/criaysalud/40/cys_40_Clostridium_difficile.pdf Consulta: Diciembre 2020.

Limbago, B.M., Long, C.M., Thompson, A.D., Killgore, G.E., Hannett, G., Havill, N. 2007. Isolation and characterization of *Clostridium difficile* for community-associated disease. Second international *Clostridium difficile* symposium, Maribor, Slovenia, 6–9 June 2007, p. 15.

Maaji, E. C., Kia, S. N. G., & Bello, M. 2020. Search for the Occurrence of *Clostridium difficile* and *Clostridium perfringens* in Pigs Within Zaria and Environs, in Kaduna State, Nigeria. *Folia Veterinaria*, 64(2), 11-19.

Manual de Diagnóstico de enfermedades de Cerdos. Lapisa. http://lapisa.com/assets/pdf/manual_diagnostico_lapisa.pdf

Paltansing, S., Van den Berg, R., Guiseinova, R., Visser, C.E., Van der Vorm, E.R., and Kuijper, E.J. 2007. The incidence of *Clostridium difficile*-associated disease (CDAD) in The Netherlands and recognition of an outbreak due to the new emerging PCR ribotype 027 strain. *Clin Microbiol Infect* **13**: 1058–1064.

Posthaus, H., Kittl, S., Tarek, B., & Bruggisser, J. 2020. *Clostridium perfringens* type C necrotic enteritis in pigs: diagnosis, pathogenesis, and prevention. *Journal of veterinary diagnostic investigation*, 32(2), 203-212.

Post, K. W., Jost, B. H., & Songer, J. G. (2002). Evaluation of a test for *Clostridium difficile* toxins A and B for the diagnosis of neonatal swine enteritis. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 14(3), 258-259.

Ramis, G. 2017. Diarreas neonatales en porcinos. Porcforum. <https://porcino.info/w-p-content/uploads/2017/05/Diarreas-neonatales-en-porcino.pdf>.

Rodriguez, C., Avesani, V., Van Broeck, J., Taminiau, B., Delmée, M., & Daube, G. 2013. Presence of *Clostridium difficile* in pigs and cattle intestinal contents and carcass contamination at the slaughterhouse in Belgium. *International journal of food microbiology*, 166(2), 256-262.

Silva, R. O. S., Junior, C. A. O., Guedes, R. M. C., Lobato, F. C. F., 2015: *Clostridium perfringens*: a review of the disease in pigs, horses and broiler chickens. *Cienc. Rural*, 4, 6, 1027— 1034. DOI:10.1590/0103-8478cr20140927.

Schumacher, VL, Martel, A., Pasmans, F., Van Immerseel, F. y Posthaus, H. 2013. Unión endotelial de la toxina beta a las células endoteliales de la mucosa del intestino delgado en las primeras etapas de la enteritis por *Clostridium perfringens* tipo C inducida experimentalmente en cerdos. *Patología veterinaria* , 50 (4), 626-629.

Sisk DB, Cole JR, Pursell AR. 1998. *Clostridium dif ficile* toxin in the piglet. *Proc IPVS Cong* .:67.

Songer, J. G., 1996: Clostridial enteric diseases of domestic animals. *Clin. Microbiol. Rev.*, 9, 2, 216—234. DOI:10.1128/ CMR.9.2.216.

Songer, JG y Anderson, MA (2006). *Clostridium difficile*: un patógeno importante de los animales destinados a la alimentación. *Anaerobio* , 12 (1), 1-4.

Songer, J. G., Post, K. W., Larson, D. J., Jost, B. H., & Glock, R. D. 2000. Infection of neonatal swine with *Clostridium difficile*. *Journal of Swine Health and Production*, 8(4), 185-189.

Songer, J. G., & Uzal, F. A. 2005. Clostridial enteric infections in pigs. *Journal of veterinary diagnostic investigation*, 17(6), 528-536.

Squire, M. M., Carter, G. P., Mackin, K. E., Chakravorty, A., Norén, T., Elliott, B. & Riley, T. V. 2013. Novel molecular type of *Clostridium difficile* in neonatal pigs, Western Australia. *Emerging infectious diseases*, 19(5), 790.

Yaeger, M., Funk, N., & Hoffman, L. 2002. A survey of agents associated with neonatal diarrhea in Iowa swine including *Clostridium difficile* and porcine

reproductive and respiratory syndrome virus. *Journal of veterinary diagnostic investigation*, 14(4), 281-287.

Yaeger, M. J., Kinyon, J. M., & Songer, J. G. 2007. A prospective, case control study evaluating the association between *Clostridium difficile* toxins in the colon of neonatal swine and gross and microscopic lesions. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 19(1), 52-59.

Zhang, L. J., Yang, L., Gu, X. X., Chen, P. X., Fu, J. L., & Jiang, H. X. 2019. The first isolation of *Clostridium difficile* RT078/ST11 from pigs in China. *PLoS One*, 14(2), e0212965.

Zeyner, A. 2006. Effect of a probiotic *Enterococcus faecium* strain supplemented from birth to weaning on diarrhea patterns and performance of piglets. . Obtenido de <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16422766>.