

PRIMER REPORTE DE ILEITIS NECRÓTICA CAUSADO POR *Lawsonia intracellularis* MEDIANTE LA PRUEBA DE INMUNOFLUORESCENCIA Y ESTUDIOS ANATOMOHISTOPATOLÓGICOS EN PORCINOS DE GRANJAS DE LIMA-PERÚ

Calle Espinoza, Sonia¹; Chavera Carrión, A.; Sandoval Chaupe, N.; Falcón Perez, N.; Torres Arrescurrenaga, M.; Valdez Carpio, M.;

RESUMEN

El presente estudio tuvo como objetivo determinar clínica, serológica y anatomohistopatológicamente la presencia de *Lawsonia intracellularis* en nuestro país. En las muestras de suero de los animales evaluados mediante la prueba de IFI, se obtuvo una seroprevalencia del 38,7 % (73/197), encontrándose en la etapa de engorde el mayor porcentaje de animales afectados. El 8% de los animales presentaron cuadros de diarrea y pérdida de condición, sacrificándose a cuatro de ellos, observándose variables lesiones anatómicas ileales. Asimismo, en cortes histopatológicos de íleon, se encontró lesiones compatibles con ileitis necrótica causada por *Lawsonia intracellularis* y para su confirmación se utilizó la técnica de Warthin Starry.

INTRODUCCIÓN

La enteropatía proliferativa porcina o lleitis es causada por *Lawsonia intracellularis*, siendo su distribución a nivel mundial, presentándose con mayor frecuencia en granjas de alto nivel sanitario, la cual necesita de la presencia de otras bacterias de la flora digestiva para iniciar la colonización a nivel de los enterocitos, la transmisión es vía fecal y oral. El periodo de incubación es de 2 a 3 semanas. El estudio de esta bacteria se inició en 1993 (Gebhart et al 1993), pero las lesiones se conocen desde hace mucho tiempo (Biestler y Schwarte 1931), En 1995 se llegó a definir como el agente causal, a la bacteria *Lawsonia intracellularis*, logrando su aislamiento sólo a partir de cultivos celulares en enterocitos de

rata. (McOrist et al 1995).

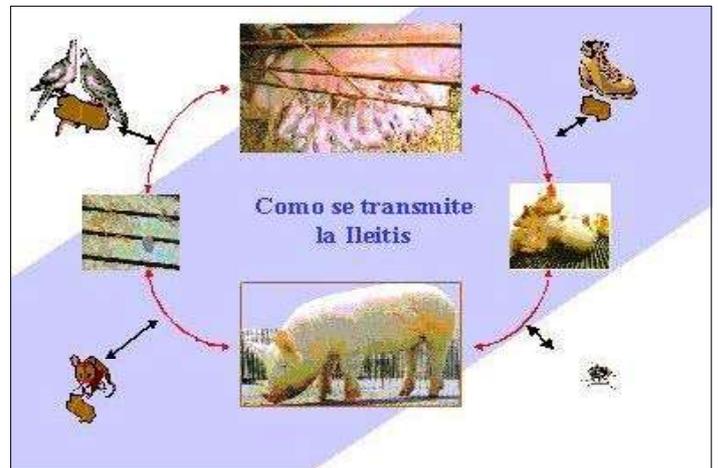
Se a reportada en Estados Unidos y en algunos países de Europa. En Sudamérica existen estudios realizados en: Brasil (34,4%), Venezuela (35,2%), Colombia (38,4%), Chile (39,3%), lo que nos demuestra su amplia difusión.

La enfermedad provoca una disfunción intestinal grave que en ocasiones puede causar la muerte de los animales. En casos más leves, cursa con apatía, anorexia y retraso en el crecimiento, complicándose en los casos crónicos con épocas alternas de diarrea no hemorrágica y estreñimiento, que ocasionan una notable pérdida en la ganancia de peso. En las formas más graves los animales pueden morir súbitamente, apreciándose en la necropsia una fuerte enteritis de carácter hemorrágico; no obstante el índice de mortalidad es bajo. En gorrinos en crecimiento con proliferación no complicada de la mucosa, el cuadro

es una enteropatía proliferativa crónica, en algunos porcinos pueden ocurrir cambios adicionales a esta lesión básica que incluyen una ileitis necrótica, una ileitis regional granulomatosa o una enteropatía proliferativa intestinal (Foto 1).

Las vías de transmisión de la enfermedad es de forma horizontal (de lechón a lechón), y por fómites, pájaros y roedores.

La enfermedad se presenta de cuatro formas: La Adenomatosis intestinal, con engrosamiento de la mucosa del íleon. lleitis regional: con engrosamiento que afecta la capa muscular. (ambas formas subclínicas, sin hemorragia, ocasionando diarrea, retraso del crecimiento y reduciendo el índice de conversión alimenticia). La Enteropatía Proliferativa hemorrágica y la Enteritis necrótica son formas clíni-



Vías de Transmisión



Foto 1: Enteropatía Proliferativa

¹ IVITA - Facultad de Medicina Veterinaria-UNMSM. scallee@vet.unmsm.edu.pe



Foto 2: Toma de muestras de sangre por punción de la vena cava

cas de la enfermedad en las que se observa la presencia de hemorragias.

Durante 1996, se estima que la industria porcina de norteamericana perdió alrededor de 20 millones de dólares por causa de esta enfermedad, calculándose un costo por animal enfermo que va desde los \$8.50 hasta los \$22.00, los que comprueba el gran impacto económico de esta enfermedad.

MATERIAL Y METODOS

Se tomaron muestras de sangre y tejidos de granjas porcinas tecnificadas localizadas en Cieneguilla, Lurín y Huaral de Lima-Perú. Los animales muestreados al azar fueron divididos en tres grupos por granja según edades; destete, hembras de reemplazo y engorde (37, 69 y 75 días respectivamente). Para el cálculo de la muestra se utilizó la fórmula de cuantificación con una prevalencia referencial del 15% (Veenhuizen et al. 1998), con un 95% de confianza y un error máximo admisible del 0.05, obteniéndose un total de 197 muestras de sangre, mediante punción de la vena cava anterior (Foto 2). Para la realización de la prueba de Inmunofluorescencia indirecta (ILEI – TEST); el suero obtenido fue diluido con PBS 1:30, (Lawson et al 1988 y Knittel 1998). Según se observa en La Foto 3. La observación se realizó mediante el microscopio de fluorescencia, considerando positiva la muestra que evidencio fluorescencia, producida por la adhesión de anticuerpos presentes en el suero con el antígeno bacteriano presente en la lamina y a la adhesión del anti-

anticuerpo de porcino conjugado con la fluoresceína (Foto 4). Al final del ensayo se colectaron tejidos de yeyuno, ileon y colon de los animales que presentaron el cuadro compatible con la enfermedad, los cuales se analizaron histopatológicamente.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

De 197 sueros sometidos a la prueba de IFI, 73 (38,7%) resultaron positivos a la presencia de anticuerpos contra *Lawsonia intracellularis*, sin embargo al tomar en cuenta la sensibilidad y especificidad de la prueba se obtuvo una prevalencia corregida de 37.06 % \pm 6,8. El cuadro No. 1 presenta la distribución de porcinos positivos a la

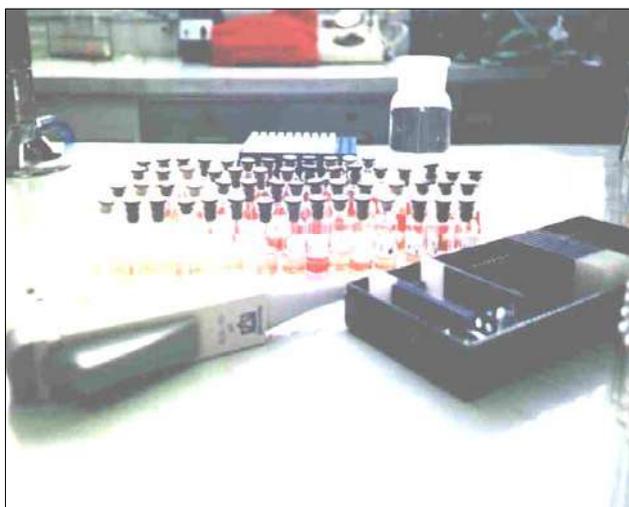


Foto 3: Muestras de suero para la prueba de IFI

presencia de anticuerpos contra *Lawsonia intracellularis* según su procedencia, observándose menor porcentaje de animales reactivos en la provincia de Huaral con respecto a Cieneguilla y Lurín. Trabajos realizados en otros países determinaron prevalencias similares a las encontradas a este trabajo (Smith y McOrist 1997).

Con respecto a la edad, al observar los resultados por edades, se observa menor prevalencia en animales destetados y mayor porcentaje en animales de engorde según se observa en la Cuadro No.2, similares a los resultados encontrados en Vene-

zuela y España, 57% y 70% de animales positivos en engorde respectivamente. La presencia de animales destetados seropositivos podría deberse a la presencia de anticuerpos maternos(3), lo que a su vez nos indicaría una infección de la madre, lo que demuestra el papel que juegan las madres en la transmisión de la enfermedad. En las zonas muestreadas de Lurín, Cieneguilla y Huaral los resultados fueron 31, 29 y 13% respectivamente, hallándose un menor riesgo de presentación en Huaral. Sin embargo, al evaluar el grupo etario como factor de riesgo no se demostró influencia alguna. Al observar los resultados de acuerdo a la procedencia, se encontró menor título de anticuerpos en animales procedentes de la zona de Huaral. Las condiciones de manejo y el tipo de animales en cada una de las zonas son similares, sospechándose que el menor factor de riesgo de presentación pudiera deberse al clima, encontrándose en Huaral la temperatura más constante durante el día con relación a las otras dos zonas, siendo los cambios de temperatura un factor que propicia formas de presentación más graves de la enfermedad. El 8% de los animales presentaron cuadros de diarrea y pérdida de condición, sacrificándose cuatro animales para ser necropsiados, observándose a nivel de ileon presencia de masas gelatinoides rojizas en la luz intestinal, con fluido y en otros sectores masas amarillentas adheridas a la mucosa, además de pseudomembranas mucosas y aparente leve engrosamiento de las capas musculares. Al análisis histopatológico se observó necrosis y atrofia de las vellosidades intestinales, dilatación y ramificación de las criptas con infiltración de neutrofilos en sus lúmenes (Foto 5). En otras secciones se observo en las vellosidades leve proliferación de enterocitos inmaduros, escasas células calciformes, epitelio descamado, severa necrosis



Foto 4: Inmunofluorescencia Positiva Indirecta (IFI), se observa la fluorescencia de *Lawsonia intracellularis* mediante una reacción antígeno - anticuerpo

de la glándula de Lieberkhün, infiltración de mononucleares en el corion, y hacia la luz restos de células desca-madas, depósito de fibrina y la pre-sencia de una flora mixta de microor-ganismos cocobacilares basófilos y espirilados, estos últimos positivos a la técnica de Warthin Starry. (Foto 6).

Por lo observado, nos encontramos frente a un cuadro lesional de severa ileítis fibrino supurativa hemorrágica difusa aguda bacteriana compatible con una ileítis necrótica causada por *Lawsonia intracellularis*.

Actualmente, se desconoce como ingresó esta enfermedad en nuestro país o si siempre ha permanecido en la población porcina, no habiendo sido correctamente identificada. Se sospecha que esta bacteria es ubicua de los cerdos y hay indicios que existe una transmisión entre roedores y cerdos (Gebhart et al. 1994), por otro lado, las relaciones comerciales con Estados Unidos y países Europeos para la adquisición de cerdos podría haber sido una puerta de entrada, ya que en esos países se ha detectado la enfermedad con anterioridad.

se encontraron lesiones compatibles con Ileítis necrótica producida por *Lawsonia intracellularis* con su respectiva demostración con la técnica de Warthin Starry. Las relaciones comerciales con Estados Unidos y paí-

ses Europeos para la adquisición de cerdos, puede haber sido una puerta de entrada, ya que en esos países se ha detectado dicha enfermedad anteriormente.

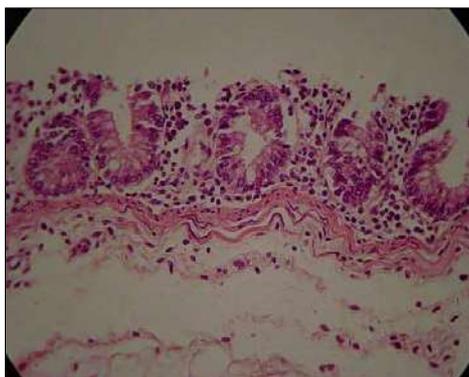


Foto 5: Corte histopatológico a nivel de ileon

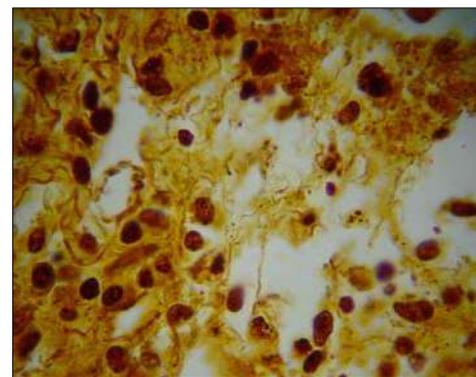


Foto 6: Técnica histoquímica de Warthin-Starry

| Zona | Total de muestras | Positivos (n) | % ± I.C.* |
|-------------|-------------------|---------------|--------------|
| Huaral | 66 | 13 | 18.97 ± 9,21 |
| Cieneguilla | 69 | 29 | 44.3 ± 11,7 |
| Lurín | 72 | 31 | 45.5 ± 11,5 |
| Total | 197 | 73 | 38.7 ± 6,8 |

Cuadro 1: Prevalencia de anticuerpos contra *Lawsonia intracellularis* en tres zonas de Lima.-Perú. *Prevalencia corregida según el porcentaje de sensibilidad 91% y especificidad 97%

CONCLUSIONES

Los animales que resultaron seropositivos a IFI habrían tenido un desafío de campo con *Lawsonia intracellularis*. Se obtuvo una seroprevalencia del 38,7 %.

encontrándose que el mayor porcentaje de animales afectados es en la etapa de engorde. En los animales sacrificados se observaron variables lesiones macroscópicas ileales. En los cortes histopatológicos de Ileon,

| Edad | Total de muestras | Positivos (n) | % ± I.C.* | Odds Ratio | IC |
|-----------|-------------------|---------------|-------------|------------|-------------|
| Destete | 69 | 17 | 24.6 ± 10.1 | 0 | 0 |
| Engorde | 69 | 31 | 47.6 ± 11,7 | 1.78 | 0.94 – 3.33 |
| Reemplazo | 59 | 25 | 44.7 ± 12,7 | 0.98 | 0.51 – 1.9 |
| Total | 197 | 73 | 38.7 ± 6,8 | | |

Cuadro 2: Evaluación de la edad como factor de riesgo en la presentación de anticuerpos contra *Lawsonia intracellularis* obtenidas según grupo erario. *Prevalencia corregida según el porcentaje de sensibilidad 91% y especificidad 97% y factor de riesgo

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Biester, H.E. y L.H.Schwarte 1931. Intestinal adenoma in swine. Am.J.Pathol. 7:185 – 185.
2. Chiriboga A.E.; W.V. Guimaraes; M.C. Vanetti; E.F., Araújo. 1999. Detection of *Lawsonia intracellularis* in faeces of swine from in the main producing regions in Brazil. *Can J Microbiol Mar*, 45(3):230-4.
3. Gebhart C.J, S.M. Barn, S. Mc. Orist . 1993. Ileal Symbiotic Intracellularis, and Obligate intracellular bacterium of Porcine Intestines sowing a relationship to Desulfovibrio species. *Int J Syst Bacteriol*. 43:533-538..
4. Hurtado M.E., R. Maestro, M. Rolo, L. Palencia.1999. Evaluaciones serológicas preliminares para detección de anticuerpos contra *Lawsonia intracellularis* en cerdos de granjas venezolanas. *Rev Porc. Venez*. 21: 14 - 15
5. Knittel J. P. 1998. New Serology test available. *Am. Jour. Vet. Res* 56(6) 722- 726.
6. Lawson GHK; A.C. Rowland;. 1992. Porcine proliferative enteropathies: Diseases of swine. Ed. Barbara Straw. Ames. IA, Iowa State University. Press,560-569.
7. Lawson, GHK; S. McOrist; A.C. Rowland; L. Roberts y E. McCartney. 1988. Serological diagnosis of the porcine proliferative enteropathies: implications for etiology and epidemiology. *Vet Rec* 122: 554 – 557.
8. McOrist, S.; C.J. Gebhat; R. Boid; S.M. Bars. 1995. Characterization of *Lawsonia intracellularis* gen. nov,sp.nov, the obligate intracellular bacterium of porcine proliferative enteropathy. *Int J Syst Bacteriol* 45 (4:820-5).
9. Smith, S. H. y S. Mc. Orist. 1997. Development of persistent intestinal infection and excretion of *Lawsonia intracellularis* by piglets. *Res Vet Sci* 62:6 – 10.
- 10.Veenhuizen, M.F.; t.e. Elan y N. Soensken. 1998 The potential economic impact of porcine proliferative enteropathy on the use swine industry. 15° Congress IPVS, Vol 2, pag. 64.