

ELIMINACIÓN DE *Lawsonia intracellularis* POR CERDOS DE ENGORDE EN DOS SISTEMAS DE PRODUCCIÓN EN YUCATÁN, MÉXICO

Shedding of *Lawsonia intracellularis* by Fattening Pigs in Two Production Systems in Yucatan, Mexico

Jorge Carlos Rodríguez-Buenfil^{1*}, Lourdes Rodríguez-Guzmán¹, José López-Espinoza², Mario Álvarez-Fleites¹ y José C. Segura-Correa¹

¹Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Autónoma de Yucatán, Mérida. Km 15,5 carretera Mérida-Xmatkuil, Mérida, Yucatán, México. Tel: +52 9999 423200; Fax: +52 9999 423205 E-mail rbuenfil@tunku.uady.mx

²División de Salud Animal, Laboratorios Elanco, México.

RESUMEN

Se realizó un estudio longitudinal para determinar la frecuencia e incidencia de *Lawsonia intracellularis* en cerdos de engorde en una granja de múltiples sitios y otra de un sitio en Yucatán, México. Se utilizaron 59 y 58 lechones negativos a *L. intracellularis* de las granjas de múltiples sitios y un sitio, respectivamente, los cuales se monitorearon cada 14 días de la semana, 1 a la 21 de edad. La bacteria en heces se detectó utilizando la prueba de la reacción en cadena de la polimerasa. Todos los cerdos de ambas granjas eliminaron *L. intracellularis* al menos una vez hasta la semana 11 de edad, encontrándose el mayor número de animales positivos a la semana 7. La incidencia acumulada fue del 100% en ambas granjas y la tasa de incidencia en las granjas de un sitio y múltiples sitios fueron 0,31 y 0,26 cerdos por cada 14 días a riesgo, respectivamente. Los resultados de este estudio proporcionan información para la implementación de esquemas de prevención control y erradicación de *L. intracellularis*.

Palabras clave: Enteropatía proliferativa porcina, incidencia, cerdos de engorde, *Lawsonia intracellularis*.

ABSTRACT

A longitudinal study was carried out to determine the frequency and incidence of *Lawsonia intracellularis* in fattening pigs in a one-site farm and a multi-site farm in Yucatan, Mexico. Fifty-

nine and 58 pigs negative to *L. intracellularis* from the one-site farm and the multi-site farm were used, respectively. Pigs were monitored every 14 days from weeks, one to 21 of age. The bacterium in faeces was detected by PCR test. All pigs from both farms shed *L. intracellularis* at least once by week 11 of age; the greatest number of positive pigs were detected at week 7. The cumulative incidence was 100% in both farms and the incidence density rates in the one-site farm and the multi-site farm were 0.31 and 0.26 pigs per each 14-days, respectively. The result of this study gives some information for the implementation of schemes of prevention, control and eradication of *L. intracellularis*.

Key words: Porcine proliferative enteropathy; incidence; fattening pig; *Lawsonia intracellularis*.

INTRODUCCIÓN

La enteropatía proliferativa porcina (EPP) es una enfermedad causada por *Lawsonia intracellularis*, caracterizada por anorexia, diarrea, apatía y visibles lesiones patonogónicas a la necropsia [13]. Esta enfermedad afecta granjas, con o sin modernos sistemas de producción, cerdos del destete al mercado y hembras de reemplazo. Esta infección es distribuida en todo el mundo, con prevalencias de granja de 15 a 35% y en animales de 15 a 20% [5]. EPP causa pérdidas económicas a la industria porcina por mortalidad, aumento en el consumo de alimento y aumento en los días al mercado [24].

Para establecer programas de control para esta enfermedad, es necesaria la información sobre los mecanismos de transmisión y sobrevivencia de la bacteria en el ambiente, la

eficacia (*in-vitro* e *in-vivo*) de antibióticos disponibles, y patrones de eliminación de la bacteria [12]. En México, los pocos estudios publicados sobre este tema son de tipo sección-cruzada, los cuales tienen ciertas limitantes para conocer la distribución de la infección. Rodríguez-Buenfil y col. [18] notifican en Yucatán, México la presencia de *L. intracellularis*, utilizando la prueba de la reacción en cadena de la polimerasa.

El objetivo de este estudio fue determinar la frecuencia e incidencia de *L. intracellularis* en cerdos de engorde en dos sistemas de producción en Yucatán, México.

MATERIALES Y MÉTODOS

La investigación se realizó de octubre 2000 a marzo 2001, en dos granjas localizadas en el estado de Yucatán, México. El clima de la región es húmedo tropical con el 70% de las lluvias ocurriendo en el verano. Una de las granjas era de múltiples sitios y la otra de un sitio (Flujo continuo). Ambas granjas tenían antecedentes de EPP.

La granja de un sitio se localizaba en un área de alta densidad porcina, en el municipio de Conkal, Yucatán, México, con un número de 300 cerdas y con producción de flujo continuo. Las etapas de lactación (1-3 semanas), crecimiento (4-10 semanas) y finalizado (11-22 semanas) se realizaron en la misma granja. Por lo tanto, la limpieza y desinfección de las jaulas y casetas en esta granja se realizaba parcialmente. Los animales recibieron alimento peletizado (sin promotores de crecimiento ni antibióticos) proporcionado manualmente.

La granja de múltiples sitios consistió de tres sitios separados geográficamente con sistema todo dentro todo fuera, localizada en una área de baja densidad porcina (0,5 granjas por Km²). El sitio 1 comprendía el hato de cría con tres módulos localizados en tres áreas geográficas, cada una con un promedio de 3.000 cerdas y un promedio de 132,6 partos por semana. El destete se realizó a los 14 días de edad. En el sitio 2 se encontraban los cerdos destetados y comprendía 9 módulos (uno siempre vacío para limpieza y desinfección), con una población promedio de aproximadamente 19.000 cerdos. El sitio 3 comprendía el área de engorde con 13 módulos geográficamente separados, con un promedio de 2.365 cerdos por semana. Los cerdos se alimentaron con alimento peletizado mediante alimentadores automáticos.

Se realizó un estudio longitudinal, utilizándose 59 cerdos en cada granja para detectar la presencia de *L. intracellularis* utilizando la prueba de reacción en cadena de la polimerasa (PCR). El número de animales por granja se obtuvo considerando una incidencia entre los cerdos no-expuestos del 10%, un nivel de confianza del 95%, poder de la prueba del 85% y un riesgo relativo de 3,3, utilizando la fórmula proporcionada por Trusfield [21]. En cada granja, 12 cerdas negativas fueron seleccionadas, eligiéndose 5 lechones de las primeras 11 cerdas y 4 de la última. Los lechones se identificaron individualmente y se escogieron usando una tabla de números aleato-

rios. Todos los lechones fueron negativos a la prueba de PCR, excepto por un lechón de la granja de un sitio, el cual fue eliminado del estudio. Los lechones se mezclaron con sus congéneres y se alojaron en jaulas de destete con capacidad de 16 animales por jaula.

Los cerdos fueron monitoreados cada 14 días, de la semana 1 a la 21 de edad. Durante cada muestreo, 1 g de heces fue colectado directamente del recto de los cerdos utilizando hisopos estériles. Las muestras de heces se guardaron en bolsas de polietileno, se identificaron y se conservaron a 4°C. Las muestras fueron congeladas a -20°C hasta su utilización para detectar la presencia de *L. intracellularis*. La bacteria se detectó por PCR en los laboratorios IASA en Tehuacan, Puebla, México [11, 12]. El ADN se extrajo usando un kit de extracción de ácido nucleico guanadina-tiocianato. 2,5 mL del iniciador 5'-TATGGCTGTCAAACACTCCG-3' y 2,5 mL del iniciador 5'-TGAAGGTATTGGTATTCTCC-3' se utilizaron para la ampliación del ADN. Para el primer ciclo, los parámetros fueron 93°C por 5 minutos, 55°C por 45 segundos y 72°C por 45 segundos. Treinta y ocho ciclos se realizaron a las temperaturas mencionadas por 45 segundos por grupo de temperaturas. El ciclo final se realizó a 93°C por 45 segundos, 55°C por 45 segundos y 72°C por 5 minutos. Las muestras positivas a PCR produjeron un producto de 319 bp detectado por electroforesis en agarosa en gel al 1%. El ADN se tiñó con bromidio de etidio y se visualizó bajo luz ultravioleta. La sensibilidad y especificidad de la prueba de PCR fueron 99% y 98%, respectivamente [4].

Un caso se definió como aquel cerdo que eliminó *L. intracellularis* por primera vez. La incidencia acumulada se calculó dividiendo el número de cerdos positivos durante el estudio entre el total de cerdos al inicio del estudio. La tasa de incidencia se calculó dividiendo el número de animales positivos durante el estudio entre el número de cerdos por cada 14 días animal a riesgo. El número de cerdos por cada 14 días a riesgo en cada muestreo, se obtuvo restando del número de cerdos al inicio del periodo de estudio la mitad de los casos nuevos.

La comparación de las incidencias acumuladas, durante el periodo de estudio entre los dos sistemas de producción se realizó mediante prueba de t de Student para dos proporciones.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Frecuencia de eliminación de *Lawsonia intracellularis*

Aunque el engorde de los cerdos se realiza hasta las 22 semanas aproximadamente, la frecuencia de eliminación de bacterias en heces se presenta hasta la semana 11, debido a que a esa edad todos los cerdos habían eliminado la bacteria al menos una vez. La mayoría de los cerdos eliminaron la bacteria más de una vez hasta las 11 semanas de edad (TABLA I). El mayor número de cerdos que eliminaron la bacteria

ocurrió a las 7 semanas en ambas granjas (TABLAS II y III). Just y col. [3], en una granja comercial de múltiples sitios en Estados Unidos observaron seroconversión de cerdos al inicio de la fase de finalizado y concluyeron que los animales se infectaron dos o tres semanas antes de dicha fase. Esto coincide con el alto porcentaje de eliminación observado en este estudio. Similarmente, en Yucatán, México, López y col. [7] notificaron que los cerdos eliminaron *L. intracellularis* durante todo el periodo de engorde. Estudios sección cruzada de algunos autores [1, 2, 14, 23] indican que las bacterias son eliminadas durante todo el periodo de engorde.

Persistencia de *Lawsonia intracellularis*

Todos los cerdos eliminaron la bacteria de tres a 8 veces durante el periodo de engorde, lo cual indica una alta persistencia de *L. intracellularis* (TABLA I). Los resultados de este estudio coinciden con los de Smith y McOrist [20] quienes detectaron una persistencia de la bacteria en cerdos retados con líneas de campo. Sin embargo, López y col. [7] encontraron que sólo un animal eliminó la bacteria dos veces durante todo el periodo de engorde de su estudio.

La persistencia y frecuencia de la eliminación de *L. intracellularis* son debidas a factores múltiples, tales como la dosis

de infección, ya que sólo una moderada cantidad de bacterias se necesitan (10^6 - 10^8) para iniciar la infección del intestino [4, 10]. Cada cerdo excreta aproximadamente 10^8 bacterias por gramo de heces [20], asociado esto, frecuentemente, a condiciones de higiene debido a contaminación de las jaulas, ropa o calzado con heces que favorecen el ciclo de infección [16]. Otro factor de riesgo son los remplazos subclínicamente infectados que pueden ser fuentes constantes de eliminación de bacterias en las unidades de lactación.

Estudios de campo mencionan que el tratamiento de animales con antibióticos reduce la eliminación fecal de *L. intracellularis* [19, 22]. Esto sugiere que la eficacia de los antibióticos y el tiempo de aplicación influyen la persistencia de *L. intracellularis* [16]. En este estudio, los cerdos no fueron medicados contra *L. intracellularis*, lo que explica la persistencia y elevada frecuencia de eliminación de bacterias.

Incidencia acumulada y tasa de incidencia

La incidencia acumulada en ambas granjas fue de 100%. Esta incidencia difiere de la obtenida en Yucatán, México [7], donde la incidencia acumulada fue 22,2% en cerdos criados en una granja de múltiples sitios. En un estudio realizado en Brasil reportan frecuencias de 19% en cerdos de 25 a

TABLA I
FRECUENCIA DE ELIMINACIÓN DE *Lawsonia intracellularis* EN CERDOS DE ENGORDE DE LA SEMANA 1 A LA 21 DE EDAD EN DOS SISTEMAS DE PRODUCCIÓN EN YUCATÁN, MÉXICO / FREQUENCY OF *Lawsonia intracellularis* SHEDDING IN FATTENING PIGS FROM WEEK 1 TO 21 OF AGE IN TWO PRODUCTION SYSTEMS IN YUCATAN, MEXICO

Granja de un sitio		Granja de múltiples sitios	
Número de veces que un cerdo dio positivo	Número de cerdos	Número de veces que un cerdo dio positivo	Número de cerdos
3	2	4	6
4	4	5	4
5	12	6	5
6	18	7	14
7	17	8	30
8	5		

TABLA II
INCIDENCIA ACUMULADA (IA) Y TASA DE INCIDENCIA (TI) PARA CERDOS ELIMINANDO *Lawsonia intracellularis* EN UNA GRANJA DE UN SITIO / CUMULATIVE INCIDENCE (IA) AND INCIDENCE RATE (TI) FOR PIGS SHEDDING *Lawsonia intracellularis* IN A ONE-SITE FARM

Muestreo		Número de cerdos		IA (%)	Cerdos a riesgo	TI (%)
Número	Edad (semanas)	Expuestos	Positivos			
1	1	58	0	0,00	58	0,00
2	3	58	14	24,13	51	0,27
3	5	44	2	27,59	43	0,04
4	7	42	27	74,13	28,5	0,94
5	9	15	14	98,27	8	1,75
6	11	1	1	100,00	0,5	2,00

TABLA III
INCIDENCIA ACUMULADA (IA) Y TASA DE INCIDENCIA (TI) PARA CERDOS ELIMINANDO *Lawsonia intracellularis*
EN UNA GRANJA DE MÚLTIPLES SITIOS / CUMULATIVE INCIDENCE (IA) AND INCIDENCE RATE (TI) FOR PIGS SHEDDING
Lawsonia intracellularis IN A MULTI-SITE FARM

Muestreo		Número de cerdos		IA (%)	Cerdos a riesgo	TI (%)
Número	Edad (semanas)	Expuestos	Positivos			
1	1	59	0	0,00	59,0	0,00
2	3	59	1	1,69	58,5	0,02
3	5	58	0	1,69	58,0	0,00
4	7	42	39	67,80	38,5	1,01
5	9	15	18	98,30	10,0	1,80
6	11	1	1	100,00	0,5	2,00

42 días de edad, de 15% en cerdos de 71 a 180 días y de 45.4% en cerdos mayores de 180 días de edad [15]. Diferencias en la incidencia acumulada entre estudios son debidas posiblemente al uso de antibióticos en el estudio de López y col. [7]. En Brasil, en regiones diferentes mencionan incidencias de 33,4% en el estado de Santa. Como se mencionó anteriormente, algunos autores [19,22] en Estados Unidos concluyeron que el uso de antibióticos reduce la eliminación de *L. intracellularis*.

Los cerdos explotados en la granja de un sitio tuvieron una mayor incidencia a las 3 semanas de edad (24,13%), comparado con los cerdos de la granja de múltiples sitios (1,69). Con respecto a la granja de múltiples sitios, López y col. [7] encontraron resultados similares.

La más alta frecuencia de eliminación se observó a las 7 semanas, en ambas granjas (27 y 39 cerdos). Estos resultados difieren de los de López y col. [7], quienes observaron que los cerdos explotados en una granja de múltiples sitios eliminaron más bacterias a la semana 11. El periodo de incubación de la bacteria es de dos a tres semanas, por tanto, es probable que los lechones se hayan infectado en el hato de cría [8, 9]. Smith y McOrist [20] sugieren que las primeras cerdas pudieran infectarse y eliminar la bacteria durante la lactancia. Por su parte, Moller y col. [14] notificaron la eliminación de *L. intracellularis* entre verracos y cerdas, sugiriendo que los reproductores pudieran ser una fuente de infección para los lechones. Al parecer, las cerdas recién infectadas proporcionan protección a sus lechones, mientras que las cerdas infectadas con bastante tiempo no proporcionan protección [17].

Aunque en ambas granjas algunas situaciones similares pudieron estar presentes con relación a la susceptibilidad de los lechones y fuente de infección, algunos autores [6] señalan que el estrés asociado con el transporte, el mezclado de animales y condiciones pobres de salud en la granja, pueden ser factores determinantes para la eliminación de la bacteria. Esos factores podrían haber influenciado las diferencias observadas entre la frecuencia de cerdos eliminando la bacteria en las dos granjas de este estudio.

La tasa de incidencia de los cerdos criados en las granjas de un sitio y múltiples sitios fueron 0,31 y 0,26 cerdos por cada 14 días a riesgo, respectivamente. Estos resultados sugieren que la bacteria es eliminada rápidamente por los cerdos en ambas granjas, no existiendo diferencias ($P > 0,05$) entre ellas en la incidencia acumulada al finalizar el estudio.

CONCLUSIONES

Aunque la incidencia de eliminación de *L. intracellularis* fue a una edad más temprana en la granja de un sitio, al final del estudio no existieron diferencias en la incidencia acumulada entre granjas. Los resultados de este estudio proporcionan información para la implementación de esquemas de prevención, control y erradicación de *L. intracellularis*.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] HOLYOAKE, P.K.; CUTLER, R.S.; CAPLE, I.W. Prevalence of proliferative enteritis on pig farms in Australia. **Austr. Vet. J.** 71:418-422. 1994.
- [2] HOLYOAKE, P.K.; JONES, G.F.; DAVIES, P.R.; FOSS, D.L.; MURTAUGH, M.P. Application of a polymerase chain reaction assay for detection of proliferative enteritis-affected swine herds. **J. Vet. Diag. Invest.** 8:181-185. 1996.
- [3] JUST, S.; THOEN, C.O.; THACKER, B.; THOMPSON, J. Monitoring of *Lawsonia intracellularis* by indirect serum immunofluorescence assay in a commercial swine production system. **J. Swine Health Prod.** 9:57-61. 2001.
- [4] KNITTEL, J.; SCHWARTZ, K.J.; MCORIST, S.; ROOF, M.; JORDAN, D.; HARRIS, D. Colonization of *Lawsonia intracellularis* in swine is dose dependent. **27th Annual Meeting of American Association of Swine Practitioners.** Nashville, February 27-March 2, Tennessee. 75-78 pp. 1996.

- [5] LANZA, I. Control of infectious enteric diseases of swine. **15th International Pig Veterinary Society Congress**. Birmingham, July 5-7, England. 79-85 pp. 1998.
- [6] LAWSON, G.H.K.; GEBHART, C.J. Review: Proliferative Enteropathy. *J. Compend. Pathol.* 122:77-100. 2000.
- [7] LÓPEZ, J.; RODRÍGUEZ, J.; VALLE, R.; ALVAREZ, M.; GOMEZ, M. A longitudinal study of porcine proliferative enteropathy in a commercial pig farm in Yucatan, Mexico. **16th International Pig Veterinary Society Congress**. Melbourne, September 17-20, Australia. 68 pp. 2000.
- [8] MAPHOTER, M.E.; JOENS, L.A.; ROBERTS, L. Experimental reproduction of porcine proliferative enteritis. *Vet. Rec.* 121:533-536. 1987.
- [9] McORIST, S.; BOID, R.; LAWSON, G.H.K. Antigenic analysis of *Campylobacter* species and an intracellular *Campylobacter*-like organism associated with porcine proliferative enteropathies. *Infect. Immun.* 57:957-962. 1989.
- [10] McORIST, S.; JASNI, S.; MACKIE, R.A.; MACINTYRE, N.; NEEF, N.; LAWSON, G.H.K. Reproduction of porcine proliferative enteropathy with pure cultures of ileal symbiont *intracellularis*. *Infect. Immunol.* 61:4286-4292. 1993.
- [11] McORIST, S.; GEBHART, C.J.; LAWSON, G.H.K. Polymerase chain reaction for diagnosis of proliferative enteropathy. *Vet. Microbiol.* 41:205-212. 1994.
- [12] McORIST, S., GEBHART, C., BOID, R., BARNS, S.M. Characterization of *Lawsonia intracellularis*, the obligately intracellular bacterium of porcine proliferative. *Int. J. System. Bacteriol.* 45:820-825. 1995.
- [13] McORIST, S.; GEBHART, C.J. Porcine Proliferative Enteropathies. In: **Disease of Swine**. 8TH Ed. Straw, B., D'Alaire, S., Mengeling, W.L. and Taylor, D. (Eds). Ames, Iowa. Iowa State University Press. 521-534 pp. 1999.
- [14] MOLLER, K.; JENSEN, T.K.; JORSAL, S.E. Detection of *Lawsonia intracellularis* in endemically infected pig herds. **15th International Pig Veterinary Society Congress**. Birmingham, July 5-9, England: 63 pp. 1998.
- [15] MORENO, A. M.; BACCARO, M.R.; COUTINHO, L.L. *Lawsonia intracellularis* detection in swine feces from important producing regions in Brazil. *Arq. Inst. Biol. Sao Paulo.* 69:5-8.2002.
- [16] O'DONOVAN, J. Ileitis and its control; knowing your enemy. *Pig Progress.* 17(6):25-27. 2001.
- [17] POZO, J.; COLLINS, A.M.; RUBIO, P.; LOVE, R.J. Maternal immunity in *Lawsonia intracellularis* infection. **16th International Pig Veterinary Society Congress**. Melbourne, September 17-20, Australia 108 pp. 2000.
- [18] RODRÍGUEZ-BUENFIL, J.C.; ALVAREZ-FLEITES, M.J.; GOMEZ-MEDINA, R. Identificación de *Lawsonia intracellularis* en 20 granjas porcinas del estado de Yucatán. *Rev. Bioméd.* 11(4):271-275. 2000.
- [19] SCHWARTZ, K.; KNITTEL, J.; WALTER, D.; ROOF, M.; ANDERSON, M. Effect of oral tiamulin on the development of porcine proliferative enteropathy in a pure-culture challenge model. *J. Swine Health Prod.* 7:5- 11. 1999.
- [20] SMITH, S.H.; McORIST, S. Development of persistent intestinal infection and excretion of *Lawsonia intracellularis* by piglets. *Res. Vet. Sci.* 62:6-10. 1997.
- [21] THRUSFIELD, M. Observational Studies. **Veterinary Epidemiology**. 2^a Ed. London, UK, Blackwell Science Ltd. 483 pp. 1995.
- [22] WALTER, D.; KNITTEL, J.; SCHWARTZ, K.; KROLL, J.; ROOF, M. Treatment and control of porcine proliferative enteropathy using different tiamulin delivery methods. *J. Swine Health Prod.* 9(3):109-115. 2001.
- [23] WENDT, B.; BONITZ, M.; McORIST, S. Prevalence of *Lawsonia intracellularis* infection in German Breeding Herds. **16th International Pig Veterinary Society Congress**. Melbourne, September 17-20, Australia. 27 pp. 2000.
- [24] WINKELMAN, N.; CORNELL, P.; BRADFORD, J. Feed Medication and two water medications against Ileitis caused by *Lawsonia intracellularis*. **28th Annual Meeting of American Association of Swine Practitioners**. Des Moines, Iowa. 195-197 pp. March 1-4, 1998.