

Hallazgos histopatológicos en cerdos positivos a *Lawsonia intracellularis* en una producción porcina en San Pedro de los Milagros, Antioquia

Ana María Ayala-Arboleda¹ , Estefanía Toro-Jaramillo¹ , Santiago Duque-Arias² 
, Luis Alberto Gallego-Castro¹ 

¹ *Escuela de Medicina Veterinaria, Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia.*

² *Grupo de Investigación en Patobiología QUIRON, Escuela de Medicina Veterinaria, Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia.*

santiago.duquea@udea.edu.co

Recibido: 16 de diciembre de 2017 y Aprobado: 25 de abril de 2018, Actualizado: 06 de junio de 2018

DOI: 10.17151/vetzo.2018.12.2.3

RESUMEN: La enteropatía proliferativa porcina (EPP) es una enfermedad que puede presentarse en los cerdos de forma asintomática, siendo una patología subdiagnosticada en el sector porcícola, generando a la vez pérdidas económicas para la producción. El análisis histopatológico del íleon permite determinar la severidad de los daños estructurales causados por *Lawsonia intracellularis*. Por tanto, esta investigación busca describir los hallazgos histopatológicos en cerdos positivos a *L. intracellularis* mediante la tinción Warthin-Starry en una producción porcina en San Pedro de los Milagros, Antioquia. Durante el segundo trimestre de 2013, se tomó una muestra de íleon a 61 cerdos sacrificados de la explotación; estas muestras se clasificaron por evaluación macroscópica y microscópica, en esta última se utilizó tinción hematoxilina-eosina para evaluar las lesiones y Warthin-Starry para visualizar la bacteria. En la evaluación macroscópica 87,14% de muestras fueron compatibles con los cuadros lesionales ocasionados por *L. intracellularis*; de estos 64,28% presentaron adenomatosis intestinal, 11,42% enteropatía proliferativa hemorrágica, 10% ileítis regional y 1,42% enteritis necrótica. En la evaluación microscópica de las muestras el 88,52% presentó inflamación de la lámina propia, en el 80,33% se evidenció hiperplasia enterocítica y en el 65,57% ramificación glandular. La presencia de la bacteria mediante Warthin-Starry se determinó en un 95% de las muestras. Se concluye que el análisis histopatológico del íleon por hematoxilina-eosina puede sugerir la presencia de la infección en el hato.

Palabras clave: adenomatosis, enteropatía, enfermedades del cerdo, ileítis.

Histopathological findings in pigs positive to *Lawsonia intracellularis* in swine production in San Pedro de los Milagros, Antioquia

ABSTRACT: Porcine proliferative enteropathy (PPE) is a disease that can occur in pigs asymptotically, being an underdiagnosed pathology in the swine sector, and generating economic losses for production. The histopathological analysis of the ileum allows to determine the severity of structural damage caused by *Lawsonia intracellularis*. Therefore, this research seeks to describe the

histopathological findings on pigs positive to *L. intracellularis* by Warthin-Starry staining in swine production in San Pedro de los Milagros, Antioquia. During the second quarter of the year 2013, ileum samples were taken from 61 swine slaughtered from the production. These samples were classified for macroscopic and microscopic evaluation, using for the latter one Hematoxylin-Eosin staining to evaluate the lesions, and the Warthin Starry staining was used to visualize the bacteria. In the macroscopic evaluation, 87.14% of the samples were compatible with lesions caused by *L. intracellularis*. Of these samples, 64.28% showed intestinal adenomatosis, 11.42% showed proliferative hemorrhagic enteropathy, 10% showed regional ileitis, and 1.42% necrotic enteritis. In the microscopic evaluation, 88.52% of the samples presented inflammation of the lamina propria, 80.33% showed enterocyte hyperplasia and 65.57% showed glandular ramifications. The presence of the bacteria using Warthin-Starry staining was found in 95% of the samples. It is concluded that the histopathological analysis of the ileum using Hematoxylin-Eosin staining suggests the presence of infection in the herd.

Key words: adenomatosis, enteropathy, swine diseases, Ileitis.

Introducción

La enteropatía proliferativa porcina (EPP) es una enfermedad que puede causar pérdidas económicas en las producciones porcícolas, se estima que genera gastos de más de 1,7 dólares (0,5-1 euro) por cada cerdo infectado, principalmente por la disminución del peso al sacrificio y la eficiencia a la conversión alimenticia (Corzo, 2008; Bae et al., 2013; Park et al., 2013). Un 15-35% de los hatos son positivos a esta enfermedad, por lo que alcanza una prevalencia del 15 al 20% (Rodríguez-Buenfil et al., 2000; Radostits et al., 2002). La EPP es una enfermedad infecciosa causada por *Lawsonia intracellularis*, una bacteria intracelular obligada, gram negativa, de forma sigmoidea, no motil, con un tamaño que oscila entre 1,25 y 1,75 μm de largo por 0,25 a 0,43 μm de ancho, que fue descrita por primera vez en cerdos Iowa de Estados Unidos por Biester en 1930 (Lawson et al., 2000; Huerta et al., 2003; Rodríguez et al., 2004, Vanucci et al., 2014). Esta bacteria tiene tropismo por el enterocito, principalmente en el último tercio del intestino delgado, ciego y colon proximal; ingresa entre el primer y tercer día post infección (Huerta et al., 2003; Boutrup et al., 2010), generando una infección crónica subclínica en cerdos jóvenes y aguda en cerdos de último tercio (Bae et al., 2013).

La presentación clínica de la enfermedad se puede dar de forma crónica y se manifiesta por bajo peso, anorexia, heces amarillentas, diarrea; cuando se presenta de una forma aguda se observa diarrea sanguinolenta y muerte súbita (Huerta et al., 2003; Jacobson et al., 2010; Bengtsson et al., 2015).

La EPP puede tener cuatro cuadros lesionales: adenomatosis intestinal porcina (AIP); enteritis necrótica (EN); ileítis regional (IR) y enteropatía proliferativa hemorrágica (EPH). Estos comparten algunas características macroscópicas como engrosamiento y plegamiento de la mucosa intestinal, además de edema mesentérico y edema de la subserosa del íleon; en la evaluación histológica se evidencia una marcada proliferación de células epiteliales de las glándulas intestinales. Las glándulas se observan

aumentadas de tamaño y ramificadas con disminución de células caliciformes e hiperplasia de enterocitos (Lawson et al., 2000; Rodríguez et al., 2004; Bengtsson et al., 2015; Jubb et al., 2016).

Desde el punto de vista clínico, la EPP es difícil de diagnosticar debido a la ausencia de signos específicos y a que su forma de presentación subclínica tiende a predominar. Las técnicas para detectar a *Lawsonia intracellularis* en cerdos son diversas, entre ellas se encuentran: prueba de reacción en cadena de polimerasa (PCR); ensayo por inmunoabsorción ligado a enzimas (ELISA); ensayo de monocapa de inmunoperoxidasa (IPMA) e hibridación de DNA; prueba de inmunofluorescencia indirecta; inmunohistoquímica y análisis histopatológico; este último es el método diagnóstico más usado por las lesiones histológicas características observadas por hematoxilina-eosina (H-E), así como a la bacteria con tinción Warthin-Starry (WS) (Huerta et al., 2003; Ladinig et al., 2009).

Debido a que el análisis histopatológico es el método diagnóstico más usado, y puesto que la enfermedad se presenta principalmente de manera subclínica o generando muerte súbita, es necesario conocer más a fondo las lesiones histopatológicas que se presentan por esta infección. Es por ello que el objetivo de esta investigación fue describir los hallazgos histopatológicos en cerdos positivos a *L. intracellularis* en la hacienda La Montaña de la Universidad de Antioquia en el segundo trimestre de 2013.

Materiales y Métodos

Tamaño de muestra

El cálculo se realizó a partir de un modelo aleatorio simple, desarrollado con un 90% de confiabilidad y un error del $\pm 6\%$, dando como resultado 61 individuos de los animales destinados a beneficio; esto, con el objetivo de analizar posibles lesiones intestinales. El estudio se realizó en una granja de ciclo completo, de flujo continuo, que maneja un inventario que oscila entre 245 ± 15 cerdos de línea Camborough 22 (de los cuales, el 11,02% son reproductoras). Esta producción se encuentra en el municipio de San Pedro de los Milagros, Antioquia, Colombia; a una altitud de 2400 m s. n. m., temperatura promedio de 16°C y ubicado en una zona de vida bosque húmedo montano bajo (bh-MB).

Toma y procesamiento de muestras

Esta se llevó a cabo en la planta de beneficio animal Envicárnicos S.A. (Envigado, Colombia), se siguió el protocolo realizado por Rodríguez et al. (2004); con una pequeña adaptación del tamaño de la muestra (originalmente se toman 20 cm, pero se modificó a 5 cm) que consiste en tomar una porción de 5 cm del último tercio del íleon, se expone la mucosa realizando un corte longitudinal, posteriormente se realiza un lavado con agua de grifo y luego con solución salina, finalmente se almacena de forma individual en frascos con formaldehído al 10 % cubriendo la muestra en su totalidad y manteniéndolas a temperatura ambiente; las muestras fueron procesadas en el Laboratorio de Patología Veterinaria de la Universidad de Antioquia, en donde fueron

embebidas en parafina y cortadas en secciones del tejido de 2 µm para luego ser teñidas con la tinción de rutina H-E con el fin de evaluar las lesiones de acuerdo a los siguientes parámetros: atrofia de las vellosidades; hiperplasia de los enterocitos; ramificación de las glándulas; disminución de células caliciformes; infiltración celular; hiperplasia de placas de Peyer e hiperplasia muscular y tinción de WS para observar la presencia o no de bacterias en el citoplasma de las células epiteliales de la mucosa del intestino y de las glándulas.

Análisis de la información

Para evaluar las muestras a nivel macroscópico y clasificarlas en los diferentes cuadros lesionales AIP, EN, IR y EPH, se usaron los parámetros descritos por Rodríguez et al. (2004) (Tabla 1). Para el análisis microscópico se utilizaron los parámetros descritos por Lawson et al. (2000) tales como hipertrofia muscular, la ramificación de glándulas y el infiltrado en lámina propia y de Pedersen et al. (2012) como son la hiperplasia de enterocitos y la disminución de células caliciformes. Todos los datos obtenidos a partir de la observación macroscópica y microscópica de las lesiones encontradas se tabularon en tablas graficadas en Excel.

Tabla 1. Parámetros de clasificación para los cuadros macroscópicos lesionales causados por EPP en la producción porcina de la hacienda La Montaña durante el segundo trimestre de 2013

Cuadro lesional	Características
Adenomatosis intestinal proliferativa (AIP)	Hiperplasia de los enterocitos de las criptas Pliegues longitudinales y transversales (Rodríguez et al., 2004).
Ileítis regional (IR)	Hiperplasia de los enterocitos de las criptas Hipertrofia muscular Pliegues longitudinales y transversales en la túnica mucosa (Rodríguez et al., 2004).
Enteritis necrótica (EN)	Presencia de placas caseosas de color amarillo gris adheridas estrechamente a la mucosa y pueden seguir la arquitectura original engrosada debido a la hiperplasia (Radostits et al., 2002).
Enteropatía proliferativa hemorrágica (EPH)	La mucosa del intestino del área afectada presenta pocas lesiones macroscópicas, salvo el marcado engrosamiento hiperplásico En la luz del intestino por lo general se encuentran coágulos formados de sangre (Radostits et al., 2002).

Aprobación de comité de ética

Este fue un estudio epidemiológico descriptivo. Aprobado por el Comité de Ética para la Experimentación Animal de la Universidad de Antioquia, según el comunicado expedido en el Acta No. 83 de 3 de mayo de 2013.

Resultados y Discusión

En la clasificación macroscópica de los cuadros clínicos lesionales de la EPP se observó una frecuencia de presentación del 87,14%, distribuida así: AIP con un 64,28% (Figura 1); EPH con el 11,42%; IR con el 10% y EN con el 1,42% (Tabla 2).



Figura 1. Evaluación macroscópica de muestra de íleon. Cuadro lesional adenomatosis intestinal porcina, en donde se observa engrosamiento de la mucosa intestinal formando pliegues transversales y leve congestión.

Tabla 2. Presentación de cuadros lesionales de EPP, analizados a nivel macroscópico en cerdos sacrificados y fallecidos de la hacienda La Montaña durante el segundo trimestre de 2013

Cuadros lesionales	Leve	Moderada	Severa	Total
Adenomatosis intestinal porcina	21,42 %	21,42 %	21,42 %	64,28 %
Ileítis regional	4,28 %	4,28 %	1,42 %	10 %
Enteropatía proliferativa hemorrágica	4,28 %	5,71 %	1,42 %	11,42 %
Enteritis necrótica	0 %	1,42 %	0 %	1,42 %

En un estudio realizado por Guedes et al. (2017) se demuestra el cambio macroscópico en el intestino según el tiempo de infección: primero se presenta sangre o necrosis en la mucosa, generando diarrea sanguinolenta; posteriormente se da el engrosamiento de la mucosa y la túnica muscular, presentando diarrea amarillenta. Esto concuerda con el presente estudio, en donde se observó principalmente el cuadro lesional AIP (64,28%) caracterizado por el engrosamiento de la mucosa; durante el tiempo de estudio, el signo

clínico más observado fue la diarrea amarillenta; asimismo, Guedes & Gebhart (2003) lo reportan como el signo clínico que más se presenta en la EPP.

El cuadro lesional AIP obtuvo una alta frecuencia del 64,28%, concordando con la literatura debido a que es la forma lesional crónica y más frecuente en los cerdos de ceba (Ladinig et al., 2009). De forma consecuente el cuadro IR se presentó con una frecuencia del 10%, ya que es una forma evolutiva y crónica de AIP. Se halló baja presencia de EN con 1,42% debido a que los animales fueron sacrificados a los 6 meses de edad y este cuadro requiere más tiempo para su desarrollo (Rodríguez et al., 2004). Finalmente el cuadro EPH se presentó en un 11,42% de los casos positivos, cifra mayor a la esperada. Para Lawson et al. (2000) la presentación de la EPH solo se da en cerdos mayores a 4 meses, entre tanto los cerdos de esta producción se sacrificaban con 6 meses o más. Igualmente la literatura reporta que la presentación de EN y EPH está relacionada con muerte súbita (Varela et al., 2009), mientras que la presentación de estos cuadros lesionales fue baja como la mortalidad en la hacienda durante el tiempo de estudio (4,08%).

Se halló la presencia de la bacteria mediante histopatología a través de la tinción WS en un 95% de las muestras (Figura 2).

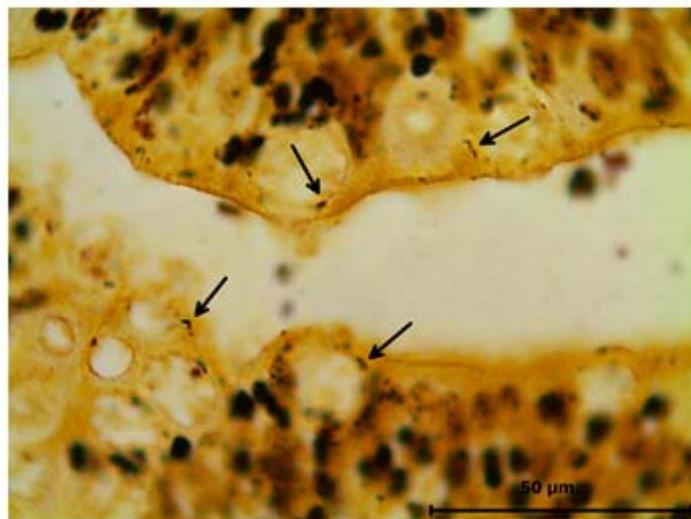


Figura 2. Identificación de *Lawsonia intracellularis* con tinción Warthin-Starry.

En la figura 3 se pueden observar las lesiones histopatológicas de las muestras de cerdos positivos por WS, en donde se destaca una marcada presentación de inflamación de la lámina propia de la mucosa del 88,52% distribuidas en: 40,98% de carácter leve; 42,62% moderado y 4,92% severo; también resaltó la hiperplasia de enterocitos con el 80,33% y la ramificación glandular con el 65,57% (Figura 4).

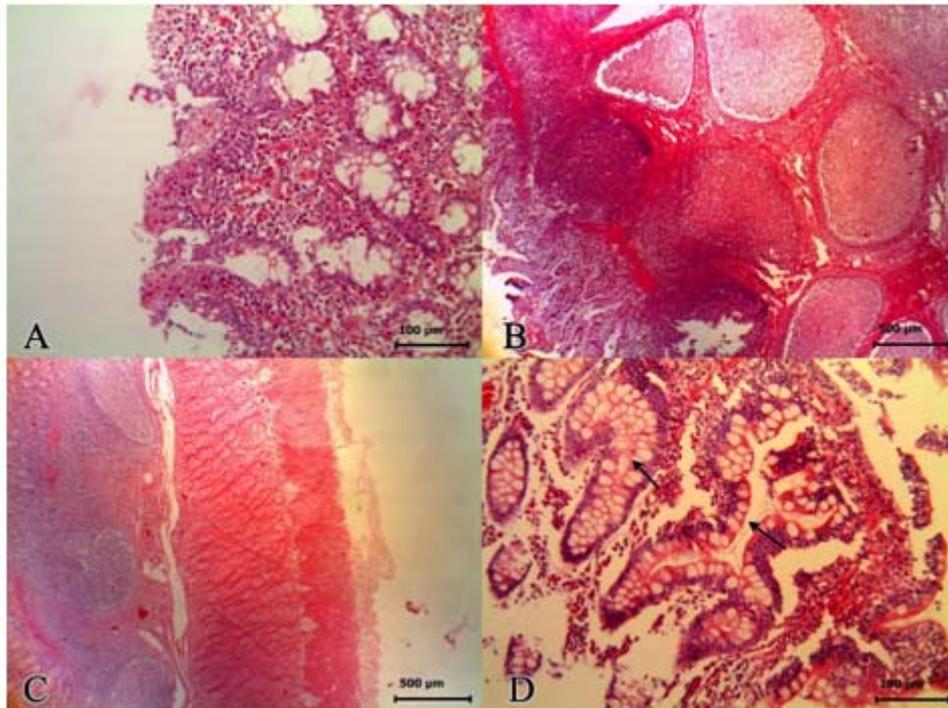


Figura 3. Imágenes con tinción hematoxilina-eosina de las lesiones características de la enfermedad. A. Pérdida de las vellosidades intestinales e infiltrado en la lámina propia. B. Hiperplasia de placas de Peyer. C. Hiperplasia de la túnica muscular. D. Ramificación de las glándulas intestinales (flechas) con hiperplasia enterocítica e infiltrado en lámina propia.

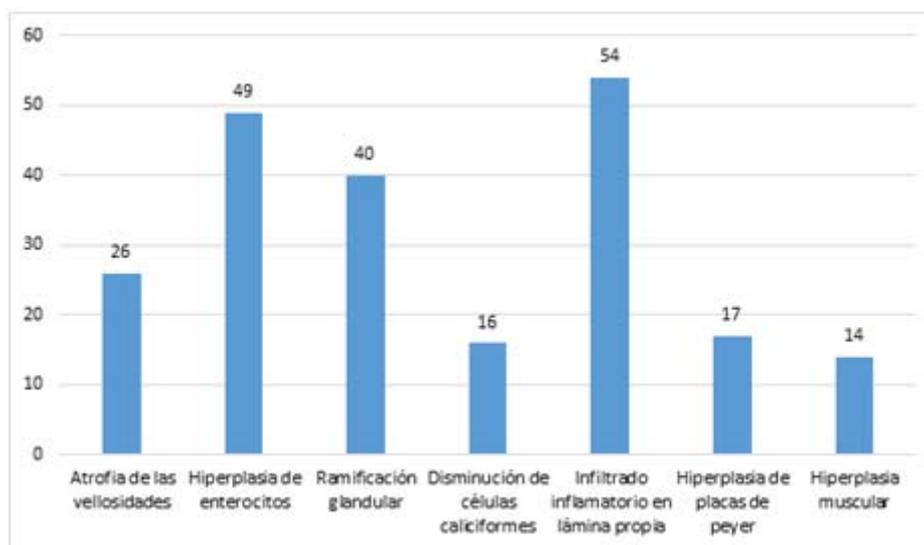


Figura 4. Presentación lesiones microscópicas en cerdos sacrificados y fallecidos en la hacienda La Montaña durante el segundo trimestre de 2013.

En el presente estudio se observó una alta positividad por tinción WS, sin embargo en todos los casos no se observó una alta carga de la bacteria. Laidinig et al. (2009) proponen que posterior al infiltrado de la lámina propia, las células inflamatorias —principalmente los macrófagos— comienzan a fagocitar y lisar la bacteria, por lo

tanto habría una disminución en el número de estas; esto concuerda con este estudio en el que la lesión con mayor frecuencia fue el infiltrado de la lámina propia (88,52%).

Vanucci et al. (2014) reportan que la ramificación y elongación de las glándulas es debido a la hiperplasia de enterocitos, una de las lesiones histológicas principales de la infección; esto concuerda con esta investigación en la que fueron dos hallazgos comunes (65,57% y 80,33% respectivamente). Asimismo, Guedes et al. (2017) caracterizan la hiperplasia de enterocitos como un determinante del diagnóstico histopatológico de la enfermedad. Pedersen et al. (2012) igualmente utilizan el criterio de la hiperplasia de enterocitos para el diagnóstico, en conjunto con la disminución de las células caliciformes; esto último, tuvo en este estudio una presentación menor (26,23%). Dittmar et al. (2003) reportan a la atrofia de las vellosidades como una lesión microscópica importante para el diagnóstico de esta enfermedad, la cual encontramos en un 42,62% de las muestras.

En este estudio se encontró una frecuencia de presentación de lesiones macroscópicas compatibles con la EPP del 87,14% y una frecuencia de presentación por diagnóstico histopatológico del 95%, lo cual no es una diferencia estadística significativa ($p > 0,05$) entre la evaluación post mortem y la evaluación histopatológica. Sin embargo Huerta et al. (2003) encontraron una sensibilidad similar entre las dos evaluaciones (66% frente 50%), pero una especificidad muy diferente (50% frente 98,5%). Aunque Dittmar et al. (2003) hallaron en 21 cerdos infectados solo un caso en el que el diagnóstico a la evaluación post mortem era negativo y por histopatología positivo, en los otros 20 casos el diagnóstico concordó. Barbosa et al. (2005) compararon la tinción H-E con WS, y cada una de estas con la inmunohistoquímica, y aunque esta última tuvo mayor sensibilidad su diferencia fue mínima (0,7 frente 0,8 de nivel de concordancia con prueba kappa).

Lo anterior, coincide con los datos de presentación de la enfermedad reportados en un estudio realizado en el matadero municipal de Medellín (Antioquia) por Rodríguez et al. (2004); estudio que reportó una prevalencia del 87,22%; la presencia de la enfermedad encontrada es alta en comparación con múltiples estudios realizados a nivel mundial, en donde la presentación de la enfermedad oscila entre 30-40% (Calle et al., 2006; Carvajal et al., 2012). Asimismo, Barbosa et al. (2005), en un estudio de diagnóstico de la EPP en Colombia, reportan que la enfermedad está ampliamente distribuida en el país principalmente en Antioquia; en donde se encuentra concentrada gran parte de la porcicultura del país.

Conclusiones

El análisis histopatológico por hematoxilina-eosina es un método diagnóstico preliminar confiable que puede ser usado para evaluar la prevalencia de la infección en el hato, siendo la tinción Warthin-Starry una técnica confirmatoria de la presencia de la bacteria.

La reacción inflamatoria crónica en la lámina propia, la hiperplasia de enterocitos y la ramificación glandular son consideradas las tres lesiones microscópicas de mayor importancia para el diagnóstico de la bacteria dado a que se encontraron en una mayor

proporción, por lo que se relaciona con la forma macroscópica y la fisiopatología de la enfermedad.

Agradecimientos

Agradecemos a la Universidad de Antioquia, Laboratorio de Patología Animal, demás asesores, a la empresa Rikatas Ltda., a la planta de beneficio animal Envicárnicos S.A., a sus operadores, por su apoyo y colaboración.

Referencias bibliográficas

- Bae, J.K. et al. Risk factors associated with *Lawsonia intracellularis* in English pig farms. **Vet J**, v. 197, p. 707-711, 2013.
- Barbosa, A.M. et al. Detección de *Lawsonia intracellularis* en cerdos por medio de las técnicas de tinción de plata e inmunohistoquímica. **Revista de la Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia**, v. 52, n. 1, p. 12-23, 2005.
- Bengtsson, R.J. et al. *Lawsonia intracellularis* infection of intestinal crypt cells is associated with specific depletion of secreted MUC2 in goblet cells. **Vet Immunol Immunopathol**, v. 168, n. 1-2, p. 61-67, 2015.
- Boutrup, T. et al. Early Pathogenesis in Porcine Proliferative Enteropathy caused by *Lawsonia intracellularis*. **Journal of Comparative Pathology**, v. 143, n. 2-3, p. 101-109, 2010.
- Calle, S. et al. Detección de ileítis necrótica causada por *Lawsonia intracellularis* en porcinos de granjas tecnificadas de la zona de Lima, Perú. **Rev Inv Vet Perú**, v. 17, n. 1, p. 67-72, 2006.
- Carvajal, A. et al. Complejo entérico: principales infecciones digestivas en la transición y el cebo. **SUIS**, v. 90, p. 14-20, 2012.
- Corzo, C.A. La enteropatía proliferativa porcina: ileítis, enfermedad que disminuye el número de cerdo de valor completo. **Porcicultura Colombiana**, v. 119, p. 19-23, 2008.
- Dittmar, M. et al. Diagnosis of porcine proliferative enteropathy: Detection of *Lawsonia intracellularis* by pathological examinations, polymerase chain reaction and cell culture inoculation. **J Vet Med B Infect Dis Vet Public Health**, v. 50, n. 7, p. 332-338, 2003.

- Guedes, R.; Gebhart, C. Comparison of intestinal mucosa homogenate and pure culture of the homologous *Lawsonia intracellularis* isolate in reproducing proliferative enteropathy in swine. **Vet Microbiol**, v. 93, n. 2, p. 159-166, 2003.
- Guedes, R.M.C. et al. *Lawsonia intracellularis* in Pigs: Progression of Lesions and Involvement of Apoptosis. **Vet Pathol**, v. 54, n. 4, p. 620-628, 2017.
- Huerta, B. et al. Comparison of Diagnostic techniques for porcine proliferative enteropathy (*Lawsonia intracellularis* Infection). **J Comp Pathol**, v. 129, n. 2-3, p. 179-185, 2003.
- Jacobson, M. et al. Porcine proliferative enteropathy: An important disease with questions remaining to be solved. **Vet J**, v. 183, n. 3, p. 264-268, 2010.
- Jubb, K. et al. **Pathology of Domestic Animals**. Ontario: Elsevier, 2016.
- Ladinig, A. et al. Comparative evaluation of diagnostic methods for *Lawsonia intracellularis* infection in pigs, with emphasis on cases lacking characteristic lesions. **J Comp Pathol**, v. 140, n. 2-3, p. 140-148, 2009.
- Lawson, GH.; Gebhart, CJ. Proliferative enteropathy. **J Comp Pathol**, v. 122, n. 2-3, p. 77-100, 2000.
- Park, S. et al. Efficacy of a commercial live attenuated *Lawsonia intracellularis* vaccine in a large scale field trial in Korea. **Clin Exp Vaccine Res**, v. 2, n. 2, p. 135-139, 2013.
- Pedersen, K.S. et al. Association between faecal load of *Lawsonia intracellularis* and pathological findings of proliferative enteropathy in pigs with diarrhoea. **BMC Vet Res**, v. 8, p. 198, 2012.
- Radostits, O.M.; Blood, D.C. **Medicina veterinaria, tratado de las enfermedades del ganado bovino, ovino, porcino, caprino y equino**. Madrid: McGraw-Hill; 2002. 291p.
- Rodríguez-Buenfil, J.C. et al. Identificación de *Lawsonia intracellularis* en 20 granjas porcinas del estado de Yucatán. **Rev Biomed**, v. 11, p. 271-275, 2000.
- Rodríguez, B. et al. Prevalencia de enteropatía proliferativa porcina y caracterización histopatológica de las lesiones asociadas en cerdos sacrificados en el Matadero Municipal de Medellín, Colombia. **Rev Col Cienc Pec**, v. 17, n. 1, p. 11-19, 2004.
- Varela, M. et al. **Importancia de *Lawsonia intracellularis* en producción porcina**. Tandil: Universidad Nacional del Centro de la Provincia de Buenos Aires, 2009.
- Vanucci, F.A.; Gebhart, C.J. Recent advances in understanding the pathogenesis of *Lawsonia intracellularis* infections. **Vet Pathol**, v. 51, n. 2, p. 465-477, 2014.

Como citar: Ayala-Arboleda, A.M. et al. Hallazgos histopatológicos en cerdos positivos a *Lawsonia intracellularis* en una producción porcina en San Pedro de los Milagros, Antioquia. **Revista Veterinaria y Zootecnia**, v. 12, n. 2, p. 22-32, 2018. <http://vetzootec.ucaldas.edu.co/index.php/component/content/article?id=253>. **DOI: 10.17151/vetzo.2018.12.2.3**