

AVANCES EN LA INVESTIGACION DE LA ILEITIS PORCINA EN MEXICO

Socci, E.G.\*<sup>1</sup>, García, C.L.<sup>1</sup>, Arriaga, D.C.<sup>1</sup>, Barrón, F.L.<sup>2</sup>, Diosdado, V.F.<sup>1</sup> y Morilla, G.A.<sup>1</sup>  
1) CLINID-Microbiología, INIFAP-SAGAR, Carr. Méx-Tol Km 15.5, Col. Palo Alto, Guajalajara, D.F. C.P. 95110  
2) IASA, S.A. DE C.V. 7 Norte 416, Tehuacán, Puebla. C.P. 75700

INTRODUCCION

La ileítis porcina es una enfermedad transmisible que afecta a cerdos destetados de todas las edades (1); la etiología precisa se desconoció por mucho tiempo y se implicaron muchos microorganismos como agentes causales. Ahora se sabe que la bacteria *Lawsonia intracelluláris* es la única capaz de reproducir la enfermedad por sí sola (2). Los cerdos que sufren de ileítis muestran una gran variedad de signos clínicos que van desde diarreas ligeras hasta una severa disentería y muerte aguda; sin embargo, en la mayoría de los casos sólo se manifiesta con anorexia y pérdida progresiva de peso, por lo que el rendimiento de los animales afectados se reduce en un 17 a 40%, esto implica un aumento en los costos de alimentación y un mayor número de días para salir al mercado.

El diagnóstico de la ileítis generalmente se realiza postmortem mediante la observación de las lesiones tanto a la necropsia como a la histopatología. El examen clínico y el estudio de rastro mediante la palpación de los intestinos tiene un valor muy limitado, porque subestima la frecuencia con que se presenta la enfermedad; esto es debido a que en la mayoría de los casos la infección es subclínica y las lesiones en el íleon desaparecen cuando los animales llegan a rastro.

Dada la importancia de la enfermedad como causante de pérdidas de peso en los animales y la dificultad para realizar el diagnóstico in vivo, se han desarrollado técnicas para amplificar el ADN de la *Lawsonia intracelluláris* por medio de la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) (3,4). Esta metodología ha demostrado ser particularmente útil en la detección de la bacteria en las heces de cerdos infectados, por lo que no hay necesidad de sacrificar al animal para determinar que sufre de ileítis.

El objetivo de este trabajo fue el de establecer, estandarizar y validar la técnica de PCR para el diagnóstico de la ileítis porcina, así como determinar la frecuencia de granjas infectadas con la *Lawsonia intracelluláris* por medio de esta tecnología.

MATERIAL Y METODOS

1. Establecimiento de la técnica de la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) para el diagnóstico de la ileítis porcina. La extracción de ADN de las muestras se realizó mediante la utilización de tiocianato de guanidina y tierras diatómeas; la amplificación del ADN se efectuó mediante el empleo de iniciadores específicos de 20 nucleótidos de longitud (A y B) que amplifican un fragmento de ADN de *Lawsonia intracelluláris* de 319 pb a través de 1 ciclo de desnaturación inicial a 93°C/5 min., 50°C/45 seg. y 72°C/45 seg.; 38 ciclos de desnaturación, alineación y extensión a 93°C/45 seg., 50°C/45 seg. y 72°C/45 seg. y 1 ciclo de extensión final a 93°C/45 seg., 50°C/45 seg. y 72°C/5 min. El ADN amplificado se visualizó en geles de agarosa al 2% teñidos con bromuro de etidio. La técnica se estandarizó empleando mucosa intestinal de un cerdo infectado experimentalmente, amablemente donado por la Dra. Gebhart de la Universidad de Minnesota, EU.; para lo cual se adicionaron distintas cantidades de la mucosa infectada a cantidades constantes de heces de cerdos sanos; como control negativo se utilizó mucosa intestinal de un cerdo sano. La validación de la prueba se realizó mediante el procesamiento de mucosa intestinal de un animal enfermo proveniente de una granja de ciclo completo en la que clínicamente se diagnosticó un brote de ileítis y en donde los hallazgos a la necropsia e histopatología eran sugestivos de la enfermedad.

2. Establecimiento de la frecuencia de granjas infectadas con la bacteria *Lawsonia intracelluláris*. En 36 granjas de ciclo completo se tomaron en promedio 5 muestras de heces o segmentos de íleon de animales entre 6 y 20 semanas de edad, que presentaron signos clínicos sugerentes de la enfermedad; las muestras se analizaron mediante la técnica de PCR.

RESULTADOS

Utilizando los oligonucleótidos A y B se pudo amplificar un producto de 319 pb a partir de la mucosa intestinal utilizada como control positivo, de las heces adicionadas con diferentes cantidades de mucosa infectada, de la mucosa de cerdo proveniente de la granja con diagnóstico clínico de ileítis, así como de las muestras de heces de cerdos de distintas granjas. Con la mucosa utilizada como control negativo no hubo amplificación.

De 36 granjas analizadas pertenecientes a distintos Estados de la República, el 38% (14/36) estaban infectadas y de éstas en el 21% de las muestras se detectó la bacteria.

El número de muestras positivas por cada granja se presenta en la tabla 1.

TABLA 1. FRECUENCIA DE MUESTRAS DE HECES O TEJIDOS EN LOS QUE SE DETECTO LA BACTERIA *Lawsonia intracelluláris* POR MEDIO DE LA TECNICA DE PCR.

NUMERO DE GRANJA	MUESTRAS DE HECES O TEJIDOS EN LAS QUE SE DETECTO <i>Lawsonia intracelluláris</i>	
	POSITIVO/TOTAL	%
1	1/5	20
2	5/7	43
3	1/7	14
4	1/1	100
5	1/4	25
6	1/2	50
7	1/7	14
8	1/9	11
9	1/6	17
10	1/6	17
11	1/12	8
12	1/5	20
13	3/7	43
14	1/2	50
15-36	0/117	0

DISCUSION

La técnica de PCR resultó ser una herramienta muy útil para la detección de la *Lawsonia intracelluláris* tanto de muestras a partir de heces como de mucosa intestinal, por lo que en México va se cuenta con un método de diagnóstico que se puede realizar in vivo y así poder detectar la forma subclínica de la enfermedad que es la más común.

La frecuencia de granjas infectadas encontradas hasta el momento, concuerda con lo reportado en otros países como Estados Unidos, España, Australia y Dinamarca; sin embargo, debido al bajo número de muestras analizadas por granja, es probable que la incidencia de ileítis sea mayor por lo que esta enfermedad debe ser tomada en cuenta dentro de las causas que provocan retraso en el crecimiento de los animales.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen a los Laboratorios ELANCO y al Patronato de Apoyo a la Investigación y Experimentación Pecuaria en México, A.C. por el apoyo recibido para la realización de este trabajo.

REFERENCIAS

1. Rowland, A.C., Lawson, G.H. (1992). Diseases of Swine 560-569.  
2. McOrist, Gebhart, C.J. (1995). Int J Sys Bacteriol 45(4): 820-825.  
3. Jones, F.G., Ward, E.G., Gebhart, C.J. (1995) Am J Vet Res 54(10): 1585-1590.  
4. McOrist, S., Gebhart, C.J., Lawson, G.H. (1994) Vet Microbiol 41: 205-212.