

# DETERMINACIÓN DE *Lawsonia intracellularis* EN INTESTINO DELGADO DE CERDOS, POR TÉCNICAS HISTOQUÍMICAS, INMUNOHISTOQUÍMICA Y PCR

Bertone, J.; Corrales, P.; Illanes, N.; Tamiozzo, P.; Redondo, L.; Romanini, S.; Yaciuk, R.; Ambrogi, A.  
Dpto. de Patología Animal Facultad de Agronomía y Veterinaria, Universidad Nacional de Río Cuarto,  
e-mail: [jbertone@avv.unrc.edu.ar](mailto:jbertone@avv.unrc.edu.ar)

## INTRODUCCIÓN

El agente causal de la Enteropatía Proliferativa Porcina (EPP) es la *Lawsonia intracellularis* (Li), una bacteria microaerófila Gram (-), intracelular obligada (4) por lo que no crece en medios convencionales "in vitro" en ausencia de células, además por su leve y variable respuesta inmune no hay técnicas serológicas precisas capaces de detectarla (2). Dada la complejidad que implica el diagnóstico certero y el incremento de casos en la casuística de nuestro departamento; nos propusimos determinar una rutina de diagnóstico confiable y económica a ser aplicada en nuestro servicio mediante: histoquímica, PCR e inmunohistoquímica, a cerdos con diarrea y lesiones microscópicas características de EPP.

## MATERIALES Y MÉTODOS

En esta publicación presentamos el avance del trabajo realizado sobre una población de 60 cerdos con diarrea provenientes de 20 criaderos intensivos de Argentina. De cada animal se obtuvo: una muestra de íleon a 10 cm por delante de la válvula ileocecal, de la cual se realizaron cortes que fueron procesados por las técnicas de Hematoxilina Eosina (H/E), tinción de Warthin-Starry (WS)(1) e inmunoperoxidasa (IPX) para identificar a Li a través del Kit de Dako LSAB®+System-HRP a una dilución del anticuerpo primario de 1/30.000 según lo recomendado por sus fabricantes (3). Se tomaron muestras de mucosa intestinal para PCR de mucosa (PCR M) y de materia fecal de colon para PCR de materia fecal (PCR MF) (1). Las muestras procesadas por IPX se consideraron positivas cuando se observó una reacción de color marrón dentro del epitelio luminal y criptal y en macrófagos de la lámina propia y de linfonódulos.

## RESULTADOS

De los 11 animales sin lesión, 5 fueron negativos a todas las técnicas y 3 sospechosos a WS (se observa una bacteria con morfología semejante a Li pero no puede determinarse su ubicación); de los cuales 2 fueron negativos a las otras técnicas y 1 sólo positivo a PCR MF. Los 3 restantes fueron positivos sólo a PCR MF. De los 26 animales con lesión, 20 fueron negativos a los PCRs y a IPX, de los cuales 18 fueron detectados como negativos a WS y 2 fueron sospechosos. De los 6 animales restantes, 3 fueron positivos a las cuatro técnicas, salvo uno que no se procesó por PCR M y los otros 3 fueron positivos sólo a PCR MF y uno de estos, sospechoso a WS. De las seis muestras sospechosas a WS 4 fueron negativas a todas las técnicas (ver tabla 1) y las 2 restantes positivas sólo a PCR MF.

## DISCUSIÓN Y CONCLUSIÓN

El cerdo que no presentó lesiones y que fue detectado positivo sólo por PCR MF, si bien podría estar eliminando Li por heces sin que las mismas realicen su acción patógena o ser un

animal en una etapa de recuperación, sería considerado falso positivo por no haber sido detectado por las técnicas histoquímicas, inmunohistoquímicas y de PCR M en el diagnóstico. El 90% de las muestras de los animales que presentan lesiones fueron negativas a los PCRs y a IPX resultado que se repitió en WS lo que estaría demostrando que otro agente estaría produciendo las lesiones, al igual que en 4 casos sospechosos según WS donde se confirmó que el agente observado podría tratarse de *Campylobacter* spp. u otro bacilo curvo por los resultados obtenidos en las otras técnicas. El 100% de los cerdos que presentaron lesiones y fueron positivos a WS también lo fueron a los dos PCR y a IPX. Estos resultados demostrarían: a) que en el caso de encontrar lesiones, H/E es confiable para detectar animales enfermos, pero se requiere de un histopatólogo con cierta experiencia en lesiones compatibles con EPP para evitar sobrevaloración de lesiones; b) que WS es capaz de detectar la bacteria cuando esta presente en la mucosa y podría ser considerada confiable para ser utilizada de rutina junto a H/E como una primera aproximación al diagnóstico de EPP en cerdos con diarrea. Pero a pesar de ser una técnica económica y de rápida ejecución, requiere de ciertos cuidados en la puesta a punto, y da como resultado animales sospechosos a los cuales habría que sumarles, el tiempo y el costo de la IPX para confirmar el diagnóstico; c) que en aquellos laboratorios donde ya se cuenta con la IPX funcionando, podría aplicarse directamente de rutina en lugar de implementar WS, ya que el ahorro de tiempo y de costo no lo justifican. Además posee la ventaja de que IPX es específica por lo que se evitarían los falsos positivos (PCR MF) y sospechosos (WS). De todos modos se hace necesario un estudio epidemiológico y estadístico para confirmarlo.

Tabla 1. Comparación de 37 resultados obtenidos por WS, PCRs e IPX. (S/L sin lesión, C/L con lesión). La diferencia en el total de muestras se debe a que

| H/E | WS + | WS - | WS sosp. | PCR M + | PCR M - | PCR MF + | PCR MF - | IPX + | IPX - |
|-----|------|------|----------|---------|---------|----------|----------|-------|-------|
| S/L | 0    | 8    | 3        | 0       | 10      | 4        | 7        | 0     | 11    |
| C/L | 3    | 18   | 3        | 2       | 23      | 6        | 20       | 3     | 23    |

algunas no fueron procesadas.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1- Bertone, J. 2007. Memorias 13° Congreso Abraves. 2-
- Huerta, B. 2003. Comp. Pathol. Vol. Not Know, xxx-xxx.
- 3- Guedes, R. Comunicación personal 2007.
- 4- Lawson, G. 1993. Journal of Clinical Microbiology. Vol. 31, 5: 1136-1142.