

La **disentería**
en un **contexto**
de **infección** por
Lawsonia
intracellularis



Las enfermedades entéricas en cerdos son una de las principales causas de pérdidas económicas en el sector porcino debido a su impacto en la salud y el rendimiento de los animales.

Estas patologías, a menudo atribuidas a un solo patógeno, también están **influenciadas por la microbiota intestinal**, que desempeña un papel clave en la colonización y severidad de las infecciones.

Entre las **enfermedades más prevalentes** se encuentran:



- ▶ La **disentería porcina** (DP), causada por *Brachyspira hyodysenteriae*.
- ▶ La **enteropatía proliferativa porcina** (EPP), causada por *Lawsonia intracellularis*.

La **DP** se caracteriza por **diarrea severa** con contenido sanguinolento, **deshidratación** y, en casos graves, **muerte**.

- Las **lesiones** se limitan al **intestino grueso** e incluyen necrosis superficial de la mucosa y exudado hemático mucofibrinoso.



Por su parte, la **EPP** tiene **manifestaciones agudas, crónicas y subclínicas**, con lesiones que incluyen hiperplasia de enterocitos inmaduros y engrosamiento de la mucosa intestinal, afectando el intestino delgado y grueso.

- La **forma subclínica de EPP**, muy común en sistemas de cría intensiva, ocasiona **pérdidas en el crecimiento** debido a la reducción en la absorción de nutrientes.

Coinfecciones entre *B. hyodysenteriae* y *L. intracellularis* se han reportado con creciente frecuencia, aunque las interacciones entre estos patógenos no han sido completamente investigadas.

En esta revisión presentamos los últimos hallazgos de dos estudios científicos en los que se buscó evaluar las condiciones de infección, posibles sinergias y perfiles de microbiota fecal en cerdos coinfectados experimentalmente, así como el efecto de la vacunación frente a ileítis en casos de disentería.



PRIMER ESTUDIO



■ Materiales y métodos

Para este primer estudio, se seleccionaron **45 lechones de 4 semanas de edad** provenientes de una granja sin antecedentes de infección por *Brachyspira* spp., *L. intracellularis* o *Salmonella* spp.



Los animales fueron divididos en **cuatro grupos**:

- ▶ **NEG (control negativo)**: 11 animales sin infección.
- ▶ **BRA (*B. hyodysenteriae*)**: 11 animales infectados solo con *B. hyodysenteriae*.
- ▶ **LAW (*L. intracellularis*)**: 11 animales infectados solo con *L. intracellularis*.
- ▶ **CO (coinfección)**: 12 animales infectados con ambos patógenos.



Durante el período experimental, los animales fueron alojados en condiciones estrictas de bioseguridad y mantenidos con agua y alimento libre de antimicrobianos. Se permitió un periodo de adaptación de 14 días antes de la infección. Cada grupo fue manejado por personal diferente para prevenir contaminación cruzada.

Para la **infección experimental** se prepararon inóculos de ambos agentes patógenos.

- Para *L. intracellularis* se utilizó un medio de células McCoy suplementado, alcanzando una concentración final de $2,76 \times 10^6$ bacterias/ml, y administrando un volumen final de 50 ml por vía intragástrica a los grupos LAW y CO en el día cero del estudio (0 dpi). Esta concentración del inóculo utilizado para la infección experimental se considera baja respecto a los niveles de excreción que se alcanzan a nivel de campo, pero el objetivo de la prueba era replicar una situación crónica-subclínica y no causar bajas agudas por enteropatía proliferativa hemorrágica.
- Para *B. hyodysenteriae*, la muestra se obtuvo de un caso clínico de disentería severa cultivado en agar con suplementos antimicrobianos bajo condiciones anaeróbicas. Los animales de los grupos BRA y CO recibieron tres dosis consecutivas (7, 8 y 9 dpi) de 50 ml con una concentración de $5,31 \times 10^6$ bacterias/ml.

Posteriormente, **se evaluó la consistencia fecal diariamente** utilizando una escala de 0 (normal) a 3 (diarrea severa), con 0,5 puntos adicionales si se observaba moco o sangre.



- ▶ Se recolectaron periódicamente **muestras fecales para PCR cuantitativa (qPCR) y aislamiento bacteriano.**

Tras la eutanasia de todos los animales el día 21 dpi, se realizaron **necropsias completas**, recolectando fragmentos del intestino delgado y grueso para evaluaciones histopatológicas y tinciones inmunohistoquímicas.



La **secuenciación del gen 16S ARNr** se realizó **para evaluar cambios en la microbiota** antes (-5 dpi) y después (21 dpi) de la infección.



Los datos se analizaron para **determinar riqueza, diversidad y abundancia relativa de géneros bacterianos.**

RESULTADOS

■ Signos clínicos

La diarrea severa fue más frecuente en el **grupo CO** (11/12 animales) a partir del día 12 dpi, mientras que en el **grupo BRA** afectó a 5/11 cerdos desde el día 14 dpi.

En el **grupo LAW**, la diarrea fue menos severa y transitoria. Se registraron muertes en dos animales del **grupo CO** y uno del **grupo BRA** debido a colitis fibrinonecrótica severa.

■ Lesiones anatomopatológicas

Macroscópicamente, en el **grupo CO** las lesiones incluyeron colitis mucohemorrágica difusa moderada a severa en 10/12 animales. Mientras, en el **grupo BRA** se observaron colitis fibrinosas multifocales en 4/11 animales, y aparecieron lesiones mínimas (hiperemia) en el **grupo LAW**.

Desde el punto de vista microscópico, las lesiones fueron más severas en el **grupo CO**, con necrosis superficial, abscesos en las criptas intestinales y proliferación de células caliciformes. En el **grupo BRA** se observaron inflamación neutrofílica moderada y hemorragias focales (*Imagen 1*).



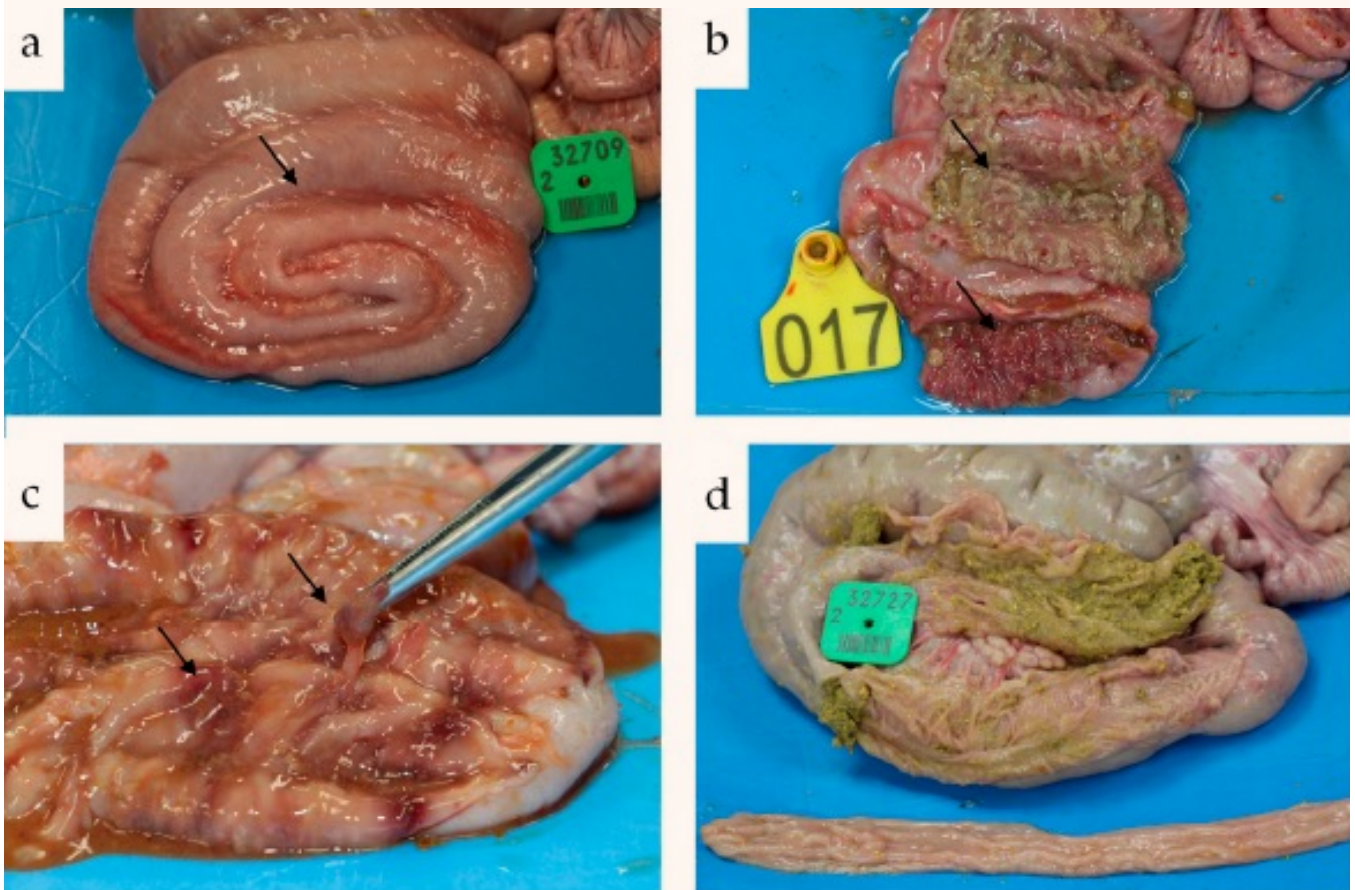


Imagen 1. Lesiones macroscópicas observadas en la necropsia.

(a) Animal del grupo CO con marcado edema de mesocolon (flecha).

(b) Animal del grupo CO con una severa colitis catarral difusa con áreas de fibrina y necrosis hemorrágica (flechas).

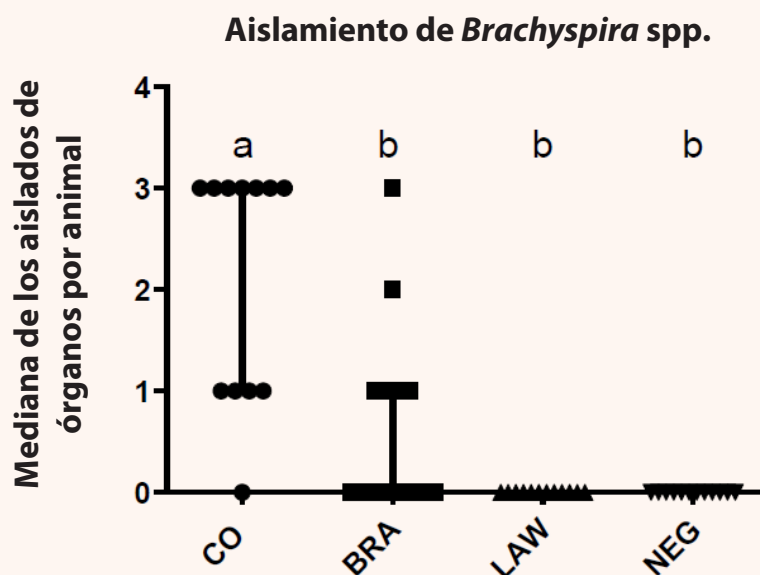
(c) Animal del grupo BRA con exceso de moco asociado con una hemorragia multifocal de la mucosa.

(d) Animal del grupo NEG con un aspecto macroscópico normal del colon.

Daniel, A.G.S et al. 2023.

Cultivo bacteriano y biología molecular

Tras el cultivo de las muestras procedentes de cada animal involucrado en el estudio, se aisló *B. hyodysenteriae* en el 92% de los cerdos del **grupo CO**, y en el 45% en el **grupo BRA**, mientras que el cultivo fue negativo para los otros 2 grupos (*Gráfica 1*).

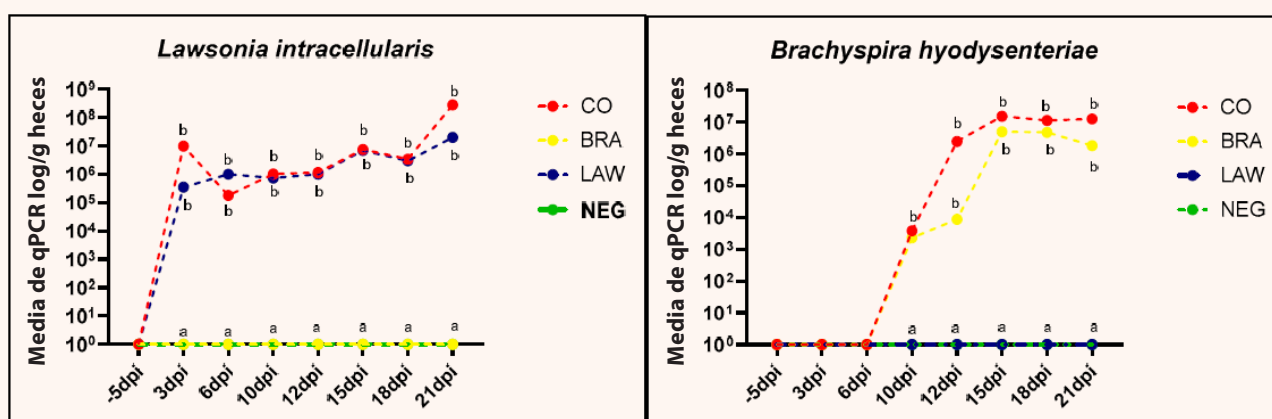


Gráfica 1. *Brachyspira* spp. aislamiento de heces/raspado de intestino grueso por grupo. Letras diferentes indican diferencias estadísticas ($p < 0,05$) entre grupos.



Se detectaron las primeras qPCR positivas para *L. intracellularis* en los **grupos CO y LAW** a 3 dpi (*Gráfica 2*). El último día de la evaluación (21 dpi) todos los animales de ambos grupos dieron positivo para *L. intracellularis*.

Se detectó qPCR para *B. hyodysenteriae* en el **grupo CO** en 10 de los 12 animales positivos 10 dpi (3 días después de la inoculación de *B. hyodysenteriae*). En el **grupo BRA**, 7 de 11 cerdos dieron positivo en qPCR y comenzaron a eliminar a los 10 dpi y 3 días después de la inoculación con *B. hyodysenteriae*.



Gráfica 2. Media de qPCR para *L. intracellularis* y *B. hyodysenteriae* durante el experimento. PCR cuantitativa mediante curva estándar.

Sin diferencia de excreción entre grupos inoculados. Letras diferentes indican diferencias estadísticas ($p < 0,05$) entre grupos en diferentes días posteriores a la infección (dpi).

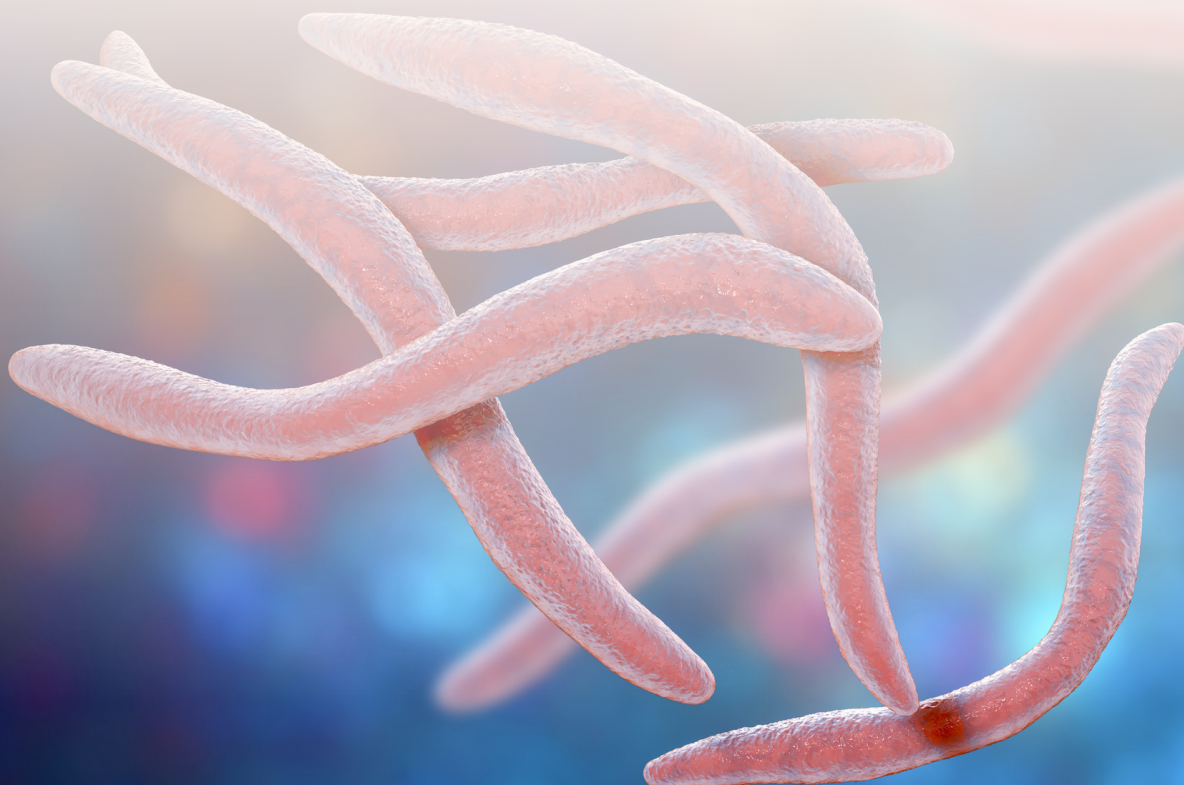


Microbiota fecal

La diversidad microbiana disminuyó significativamente en el **grupo CO**, destacándose géneros como *Prevotella*, *Fusobacterium* y *Desulfovibrio*. En el grupo LAW, se observó mayor abundancia de *Megasphaera* y *Dialister*, mientras que en el **grupo NEG** predominó *Odoribacter*, asociado con un estado de homeostasis intestinal correcto.



No hubo diferencias significativas en la riqueza entre los grupos; sin embargo, fue posible observar mayor diversidad en el **grupo NEG** que en los otros grupos, y menor diversidad en **CO** en comparación con los otros grupos a 21 dpi.



SEGUNDO ESTUDIO



¿Qué ocurre en un escenario de vacunación frente a *L. intracellularis*?

En un estudio presentado por la Universidad de Minnesota al último congreso IPVS 2024, se evalúa el efecto de la vacunación intramuscular frente a *L. intracellularis* en la coinfección por *B. hyodysenteriae*.



Para ello **80 lechones de 21 días de vida se distribuyeron en 5 grupos:**

▶ **V-CO:** vacunados y coinfectados (n=21).

P-CO: placebo, es decir, no vacunados y coinfectados (n=18).

V-LAW: vacunados e infectados con *L. intracellularis* (n=21).

P-LAW: placebo e infectados con *L. intracellularis* (n=12).

NC: no vacunados ni desafiados (n=8).

Los desafíos tuvieron lugar a los 22 días posvacunación frente a *L. intracellularis* (0 dpi) y una semana después para *B. hyodysenteriae* (7dpi).

En este contexto se evaluaron los signos clínicos (respecto a un score de heces), la presencia de antígeno por inmunohistoquímica en fragmentos de íleon tras necropsia de todos los animales 21 dpi, y los niveles de IgG en suero por IPMA (Inmunoperoxidasa en Monocapa) en ambos casos frente a *L. intracellularis*.

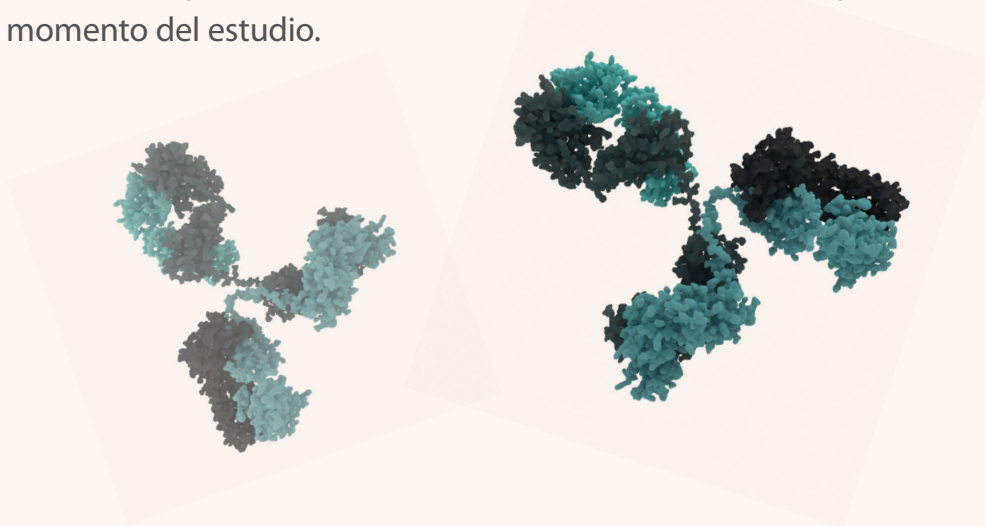


Los **animales coinfectados**, independientemente del estatus de vacunación, tuvieron **signos clínicos** (diarrea) **más evidentes** que los animales infectados solo por *L. intracellularis*.



Además, la inmunohistoquímica mostró que en los **animales vacunados se reduce la infección a nivel del íleon** en ambos grupos vacunados frente al placebo.

Los **niveles de anticuerpos IgG** fueron significativamente **más altos** en los **grupos vacunados** respecto a controles en algún momento del estudio.



DISCUSIÓN

La coinfección por *B. hyodysenteriae* y *L. intracellularis* exagera los signos clínicos y las lesiones intestinales, probablemente debido a un efecto inmunosupresor de *L. intracellularis* que facilita la colonización de *B. hyodysenteriae*.

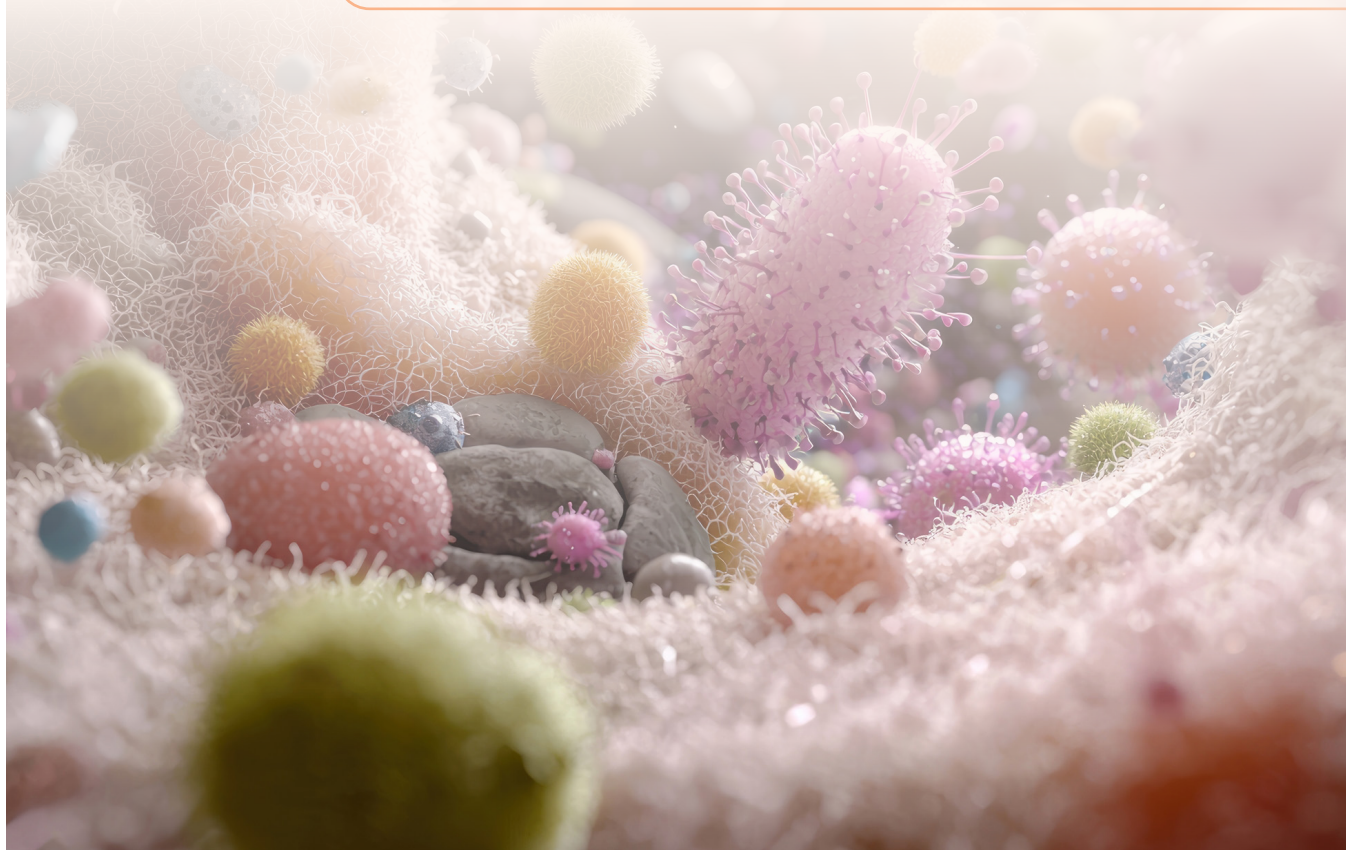
La alteración de la microbiota intestinal en el **grupo CO** refuerza la importancia del equilibrio microbiano en la patogénesis de estas infecciones.



- ▶ El primer estudio subraya la necesidad de **enfoques integrales** que consideren las **interacciones entre patógenos y microbiota** para el manejo efectivo de enfermedades entéricas en cerdos.

Las coinfecciones de *L. intracellularis* con otros patógenos no se reducen solo a *B. hyodysenteriae*, sino que ha podido ser demostrado un **efecto sinérgico** en la infección con otros agentes como *Salmonella* spp. o *Trichuris suis*.

- ▶ Es por ello por lo que el concepto de complejo entérico porcino está cada vez más en auge, de la misma manera que está totalmente aceptado la existencia de un complejo respiratorio.



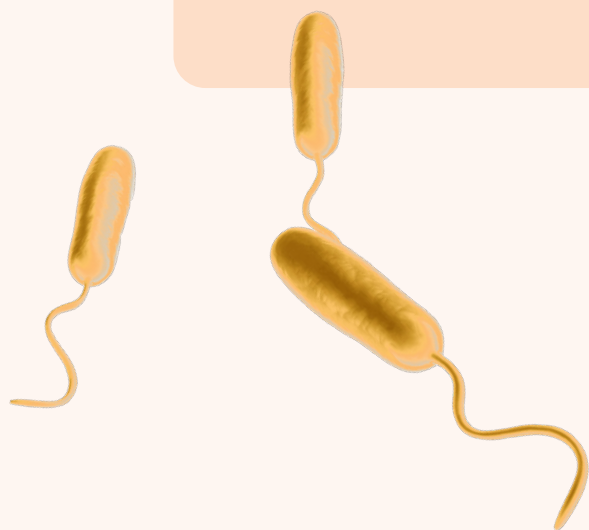
CONCLUSIONES

La **coinfección** entre *B. hyodysenteriae* y *L. intracellularis* **genera efectos sinérgicos en términos de signos clínicos más graves**, así como una mayor intensidad de lesiones macroscópicas e histológicas.

La hipótesis de los investigadores es que *L. intracellularis* es un **factor inmunosupresor** que favorece la colonización por *B. hyodysenteriae*.



Además, **la vacunación intramuscular frente a *L. intracellularis* reduce la colonización intestinal incluso en animales coinfectados.**



BIBLIOGRAFÍA



Daniel, A.G.S *et al.* Synergic Effect of *Brachyspira hyodysenteriae* and *Lawsonia intracellularis* Coinfection: Anatomopathological and Microbiome Evaluation. *Animals* 2023, 13, 2611. <https://doi.org/10.3390/ani13162611>

Vanucci, F. *et al.* Ileitis vaccination: assessment of immune response and clinical signs in pigs co-infected with *Lawsonia intracellularis* and *Brachyspira hyodysenteriae*. IPVS 2024.



MSD

Animal Health

www.msd-animal-health.es

