

Determinación de la frecuencia de piaras infectadas con *Lawsonia intracellularis* en México mediante la técnica de PCR

PCR Determination of *Lawsonia intracellularis*-infected herds in Mexico

Guadalupe Socci Escatel^a, Fernando Diosdado Vargas^a, Elvira Carrera Salas^a, López J^b, Camila Arriaga Díaz^a, Antonio Morilla González^a

RESUMEN

Uno de los métodos de diagnóstico de la ileítis porcina causada por *Lawsonia intracellularis* es la reacción en cadena de la polimerasa (PCR). El objetivo de este trabajo fue determinar la frecuencia de piaras infectadas con *Lawsonia intracellularis* mediante la técnica de PCR. Para este propósito, se realizó un muestreo de heces de un promedio de 10 cerdos de 12 semanas de edad por piara, de 282 piaras. Se encontró que en el 37 % (105/282) de las piaras y de éstas, en el 21 % (231/1098) de las muestras de heces, se detectó la bacteria por PCR. Para determinar el periodo de producción en que los cerdos excretaban la bacteria se tomaron muestras de animales de diferentes edades de 148 piaras, y se observó que 9.3 % de los cerdos excretaban la bacteria durante el destete, llegando hasta el 22 % en la engorda. Además, en 12.6 % de los cerdos muestreados de granjas con sistemas de producción de flujo continuo se detectó la bacteria, en comparación con el 2.5 % de los cerdos de granjas con sistema de grupos todo adentro/todo afuera. Se concluyó que la frecuencia de piaras positivas a *L. intracellularis* estuvo relacionada con el sistema de producción y fue semejante a la que se ha encontrado en otros países.

PALABRAS CLAVE: Cerdos, *Lawsonia intracellularis*, PCR, México.

ABSTRACT

One method for the diagnosis of swine ileitis caused by *Lawsonia intracellularis* is polymerase chain reaction (PCR). The objective of this research was to determine the frequency of herds infected with *L. intracellularis* using the PCR technique. For this purpose, fecal samples were obtained from an average of ten 12-wk-old pigs per herd, for a total of 282 herds. *L. intracellularis* was detected by PCR in 37 % (105/282) of the herds, and in 21 % (231/1098) of the sera from such herds. In order to determine the production period in which pigs shed the bacterium, fecal samples were obtained from animals of different ages among 148 herds. Nine point three percent (9.3 %) of the pigs were found to shed *L. intracellularis* in the nursery, and up to 22 % during the grow-finish period. In addition, *L. intracellularis* was found in 12.6 % of the fecal samples from farms with continuous flow production systems, as compared with 2.5% in farms with all-in/all-out systems. It was concluded that the frequency of *L. intracellularis*-positive herds was related with the production system, similar to what has been reported in other countries.

KEY WORDS: Swine, *Lawsonia intracellularis*, PCR, Mexico.

La ileítis porcina también denominada enteropatía proliferativa o adenomatosis intestinal, es una enfermedad transmisible común de los cerdos. El agente etiológico es la bacteria *Lawsonia*

Swine ileitis –also known as proliferative enteropathy, or intestinal adenomatosis– is a common, transmissible disease of swine. The etiologic agent is *Lawsonia intracellularis*⁽¹⁾, a

Recibido el 14 de julio de 2004 y aceptado para su publicación el 2 de febrero de 2005.

^a Centro Nacional de Investigaciones Disciplinarias en Microbiología Veterinaria, Instituto Nacional de Investigaciones Forestales Agrícolas y Pecuarias. Km 15.5, Carretera México-Toluca. Col. Palo Alto. Cuajimalpa 05110, México, DF. diosdado.fernando@inifap.gob.mx. Correspondencia al segundo autor.

^b Elanco Animal Health. Eli Lilly y Compañía de México S.A.de C.V.

intracellularis⁽¹⁾ que se multiplica en el citoplasma de las células epiteliales de las criptas intestinales, provocando engrosamiento de las paredes del yeyuno, íleon e intestino grueso, lo que afecta el tránsito y la absorción del alimento⁽²⁾. La infección ocurre principalmente en los cerdos en crecimiento de 6 a 20 semanas de edad y puede ser inaparente o provocar anorexia, apatía y diarrea, que puede ser desde ligera hasta una severa disentería que llega a ocasionar la muerte. Esta enfermedad ocasiona importantes pérdidas económicas debido a que disminuye la eficiencia alimenticia, por lo que se incrementan los costos en la alimentación y los cerdos se retrasan para salir al mercado^(3,4).

La enfermedad fue reportada por primera vez en los Estados Unidos⁽⁵⁾ y posteriormente en otros países como Australia, Bélgica, Brasil, Canadá, Dinamarca, Finlandia, Francia, Grecia, Holanda, India, Japón, Sudáfrica, Suiza, Taiwán, Reino Unido, Yugoslavia y México, por lo que actualmente se considera que su distribución es mundial^(2,6).

El diagnóstico de la ileítis en las piaras se ha hecho por medio de la observación de las lesiones características del intestino en la necropsia e histopatología. Para el diagnóstico en el animal se utiliza la técnica de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) que detecta la bacteria en las heces^(7,8,9), así como pruebas serológicas que reconocen anticuerpos específicos^(10,11).

La técnica de PCR ha mostrado tener elevada sensibilidad y especificidad⁽⁷⁾ y ha permitido efectuar estudios sobre prevalencia en diferentes países. En general se ha reportado que se detecta entre el 20 al 40 % de las piaras y de cada piara, entre el 15 al 20 % de los cerdos excretan la bacteria^(12,13,14,15). En un estudio anterior hecho en México se detectó la bacteria por PCR en heces de tres piaras, en donde se había diagnosticado ileítis clínicamente y en la necropsia; no se encontró la bacteria en una granja en donde los cerdos no mostraban signos clínicos⁽¹⁶⁾.

El objetivo de este trabajo fue el de determinar la frecuencia de piaras infectadas y de animales en

bacterium that replicates in the cytoplasm of the intestinal crypt epithelial cells, resulting in thickening of the walls in the jejunum, ileum, and large intestine, affecting feed passage and absorption⁽²⁾. Infection occurs mainly in growing pigs (6 to 20 wk of age) and it can pass undetected or result in anorexia, apathy, mild diarrhea to severe dysentery, and even death. The disease causes important economic losses due to decreased feed efficiency, which increases production costs (i.e. increased feeding cost/extended days to market)^(3,4).

The disease was first reported in the US⁽⁵⁾, then in other countries like Australia, Belgium, Brazil, Canada, Denmark, Finland, France, Greece, Holland, India, Japan, South Africa, Switzerland, Taiwan, the UK, Yugoslavia, and Mexico. It is now distributed globally^(2,6).

The diagnosis of ileitis in swine herds has been based on the observation of the characteristic gross and histopathological intestinal lesions. For the diagnosis in live animals, polymerase chain reaction (PCR) is used to detect the bacterium in fecal samples^(7,8,9). Serological tests recognize specific antibodies^(10,11).

PCR has shown high sensitivity/high specificity⁽⁷⁾ and it has been used as the basis for prevalence studies in different countries. Generally, *L. intracellularis* has been detected in 20 to 40 % of the herds. In addition, 15 to 20 % of the pigs within a herd shed the bacterium in the feces^(12,13,14,15). In an earlier study carried out in Mexico, *L. intracellularis* was detected by PCR in the feces of three herds where ileitis had been diagnosed both clinically and at necropsy. *L. intracellularis* was not found in a herd with non clinical signs⁽¹⁶⁾.

The purpose of this study was to detect the frequency of *L. intracellularis*-infected herds/individual animals in different production stages, and under various production systems. Convenience sampling was performed in 282 farrow-to-finish farms located in 16 Mexican states (Table 1). From each farm, an average of 10 fecal samples was taken from 12-week-old pigs showing clinical signs

las diferentes etapas productivas y sistemas de producción. Se llevó a cabo un muestreo por conveniencia en 282 granjas de ciclo completo localizadas en 16 estados de la República Mexicana (Cuadro 1). De cada granja se tomaron en promedio 10 muestras de heces de cerdos de doce semanas de edad que presentaban signos clínicos compatibles con ileítis, dando un total de 2,814 muestras. De las 282 granjas, en 148 se tomaron muestras adicionales de heces de un promedio de ocho cerdos, de la etapa de destete (4-7 semanas de edad), desarrollo (8-11), crecimiento (12-15) y engorda (16-24). Además, se comparó el porcentaje de cerdos que excretaban la bacteria cuando fueron mantenidos en seis granjas que tenían el sistema de producción de flujo continuo durante todo el proceso productivo, y en siete con el sistema todo adentro/ todo afuera hasta las 11 semanas y flujo continuo a partir de las 12 semanas de edad.

La extracción de ADN de las muestras se realizó de acuerdo a un protocolo ya establecido⁽¹⁷⁾. Un gramo de heces fue homogeneizado con 1.5 ml de agua destilada estéril y pasado por un cedazo; del filtrado se tomaron 400 μ l y se mezclaron con 950 μ l de una solución de lisis [10 M tiocianato de guanidina, 22mM EDTA, 0.1M tris-HCl (pH 6.4), 0.65 % (vol/vol) de tritón X-100] y 50 μ l de una suspensión al 20 % de tierras diatomeas en 0.17 M de HCl. La mezcla se agitó y se incubó a temperatura ambiente por 10 min, se agitó nuevamente (5 seg), se centrifugó a 5000 xg por 15 seg y el sobrenadante se desechó. La pastilla se lavó dos veces con 1 ml de solución de lavado (10 M tiocianato de guanidina, 0.1 M tris-HCl pH 6.4), dos veces con etanol al 70 % y una vez con acetona. En cada lavado la pastilla se agitó hasta dispersarla completamente y se centrifugó por 25 seg. Después de retirar la acetona, la pastilla se secó a 56 °C por 30 min, se resuspendió en agua para PCR y se incubó en baño María a 56 °C por 5 min, se centrifugó 5 min y el sobrenadante se empleó como ADN blanco para la técnica de PCR.

Para determinar la presencia de *L. intracellularis* se siguió la metodología descrita por Jones *et al.*⁽⁷⁾ modificada por García *et al.*⁽¹⁸⁾, que utiliza un par de oligonucleótidos que amplifican un segmento

Cuadro 1. Procedencia de muestras de heces de piaras de 16 Estados de la República Mexicana

Table 1. Origin of swine fecal samples from 16 Mexican States

Origin	Number of farms	Positive/Total samples
Northern Baja California	1	0/10
Chiapas	3	1/24
Coahuila	1	0/4
State of México	23	17/179
Guanajuato	10	3/69
Hidalgo	2	2/4
Jalisco	13	4/120
Michoacán	8	3/38
Morelos	3	0/12
Nuevo León	6	7/38
Puebla	28	14/201
Querétaro	3	8/38
Sinaloa	9	6/121
Sonora	101	90/947
Veracruz	7	3/54
Yucatán	64	73/955
Total	282	231/2814

consistent with ileitis, for a total of 2,814 samples. Additional fecal samples were obtained from 148 out of the 282 farms, from an average of 10 pigs per farm during the weaning, rearing, growing, and finishing periods (4-7; 8-11; 12-15; and 16-24 weeks of age, respectively). In addition, the percentage of pigs excreting the bacterium in six continuous flow farms throughout the productive process and in seven all-in/all-out farms up to 11 wk followed by continuous flow from 12 wk on was compared.

Sample DNA extraction was performed in agreement with a previously established protocol⁽¹⁷⁾. One gram of feces was homogenized with 1.5 ml sterile, distilled water, and then passed through a screen. Four hundred (400) μ l of the filtrate were mixed with 950 μ l of a lysis solution [10 M guanidine thiocyanate, 22mM EDTA, 0.1M Tris-HCl (pH 6.4), 0.65% (v/v) triton X-100], and 50 μ l of a 20% diatomaceous earth suspension in 0.17 M HCl. The mixture was mixed and incubated at ambient temperature for 10 min, and then mixed

del ADN de la bacteria de 319 pb cuya secuencia es la siguiente: A, 5'-TATGGCTGTCAAACACTC CG-3' y B, 5'-TGAAGGTATTGGTATTCTCC-3' que corresponden a los nucleótidos 5 a 24 y 304 a 323 respectivamente, en el fragmento clonado de ADN de la bacteria. La prueba tiene una sensibilidad y especificidad cercana al 100%⁽¹²⁾.

Para comparar si había diferencias en la excreción de la bacteria cuando se utilizaba el sistema de producción todo adentro/todo afuera o flujo continuo, se empleó el análisis de varianza y prueba de Tukey ($P < 0.05$).

Los resultados mostraron que en el 37 % (105/282) de las granjas hubo animales que excretaban la bacteria y de las 105 pjaras el 21 % (231/1098) de las heces de los cerdos fueron positivas por PCR.

Con relación a las 148 pjaras en donde se tomaron muestras en los diferentes períodos de producción, se encontró que en 35 % (52/148) hubo animales que excretaron la bacteria y de éstas, el 23 % (113/484) de las muestras de heces fueron positivas al PCR. A partir del destete se detectó que el 9.3 % de los cerdos excretaban la bacteria, porcentaje que se incrementó hasta llegar al 22 % en la engorda (Cuadro 2). No se encontraron pjaras en las que la bacteria estuviera siendo excretada durante todas las etapas productivas, sino que generalmente sólo fue en una de ellas. Además, se observaron diferencias en la frecuencia de los cerdos que excretaban la bacteria; en las seis granjas con sistema de flujo continuo fue del 12.6 % y en el sistema todo adentro/todo afuera de 2.5 % ($P < 0.05$) (Cuadro 3).

La técnica de PCR ha sido muy útil para detectar la excreción de *L. intracellularis* en los cerdos, como correlación del diagnóstico de ileítis. Se ha reportado una sensibilidad y especificidad cercana al 100 %⁽¹²⁾, sin embargo, los estudios de campo indican que PCR detecta la bacteria, pero no todos los cerdos la excretan en suficiente cantidad para ser detectada.

La frecuencia del 37 % de pjaras en las que se detectó *L. intracellularis* y sólo en el 21 % de las

again for 5 sec, and centrifuged at 5,000 xg for 15 sec. Supernatant was discarded. The pellet was washed twice with 1 ml washing solution (10 M guanidine thiocyanate, 0.1 M Tris-HCl, pH 6.4), then washed twice with 70% ethanol, and once with acetone. In each washing, the pellet was shaken to full dispersion, then centrifuged for 25 sec. After removing the acetone, the pellet was dried at 56 °C for 30 min, re-suspended in PCR water, incubated in a 56 °C water bath for 5 min., and centrifuged for 5 min. Supernatant was used as a DNA blank for the PCR analysis.

The methodology described by Jones *et al.*⁽⁷⁾, as modified by García *et al.*⁽¹⁸⁾ was used to determine the presence of *L. intracellularis*. This method uses one pair of oligonucleotides that amplify one 319 bp bacterial DNA fragment which sequence is as follows: A, 5'-TATGGCTGTCAAACACTCCG-3' and B, 5'-TGAAGGTATTGGTATTCTCC-3', which correspond to the 5-24 and 304-323 nucleotides, respectively, in the cloned bacterial DNA fragment. The test has both sensitivity and specificity of nearly 100%⁽¹²⁾.

Variance analysis and Tukey's test ($P < 0.05$) were used to compare any differences in bacterial shedding rates between all-in/all-out and continuous flow systems.

Cuadro 2. Frecuencia de muestras de heces en las que se detectó *Lawsonia intracellularis* por medio de la prueba de PCR de cerdos de 35 granjas en donde se detectó la bacteria

Table 2. Frequency of fecal samples with positive *Lawsonia intracellularis* PCR detection in pigs from 35 farms where the bacterium was detected

Productive stage (weeks)	Positive herds	Feces	
		+/total	%
Weaning (4-7)	20	25/267	9.3
Rearing (8-11)	15	21/116	18.1
Growing (12-15)	10	11/75	14.6
Finishing (16-24)	12	17/77	22.0
Total	35	74/535	13.8

muestras de heces, estuvo dentro del rango que se ha reportado en diversos trabajos cuando se utiliza PCR, que ha sido el 20 al 40 % de piaras infectadas y en cada piara sólo alrededor del 12 al 50 % de los animales muestreados excretan la bacteria. Por ejemplo en Yucatán, se encontró que en el 40 % (8/20) de las piaras hubo animales que excretaban la bacteria⁽¹⁶⁾, en los Estados Unidos 29 %, España 19 %, Dinamarca 30 %, Venezuela 60 %, Corea 20 %, Italia 24 %, Taiwán 40 % y México 23 % (12-15, 19-23).

No se encontraron piaras en las que la bacteria estuviera siendo excretada durante todas las etapas productivas, sino generalmente sólo fue en una de ellas. Después del destete fue cuando se detectaron más piaras en las que los cerdos excretaban la bacteria, aunque proporcionalmente fueron menos los animales (9.3 %) que la excretaban; en cambio en la engorda hubo menos piaras en las que se detectaron cerdos excretando, pero en 22 % de las muestras se detectó la bacteria. Estos resultados fueron semejantes a los reportados en otro estudio⁽¹³⁾.

Este incremento de la frecuencia de la etapa de destete a la engorda pudo ser debido a la desaparición de la inmunidad materna, o a que generalmente se medicaba el alimento durante el destete con antimicrobianos como tilosina, lincomicina, espectinomicina, y oxitetraciclina, que

Results showed that 37 % (105/282) of the farms contained pigs shedding *L. intracellularis*. Also, in 21 % of the 105 herds (231/1098) feces were positive to PCR.

In 35 % of the 148 herds (52/148) from which fecal samples were obtained throughout the different production periods, pigs shedding *L. intracellularis* existed. 23 % (113/484) of the fecal samples from these farms were positive to PCR. Starting at weaning, 9.3 % of the pigs shed *L. intracellularis*, and this was increased up to 22 % during the grow-finish period (Table 2). No herds were found with bacterial shedding simultaneously in all productive stages, but this generally happened only in one stage. Furthermore, differences were observed among pigs shedding *L. intracellularis*: 12.6 % in the six continuous flow farms, and 2.5 % in all-in/all-out farms ($P < 0.05$) (Table 3).

PCR has been useful in detecting *L. intracellularis* in pigs, as a correlation in the diagnosis of ileitis. Nearly 100% sensitivity/specificity has been reported⁽¹²⁾. Field studies show that PCR detects *L. intracellularis*, nevertheless, not all pigs shed the bacterium in quantities high enough to allow detection.

PCR detection frequency of 37 % in farms, and only 21 % detection in fecal samples is consistent with previous reports (20+40 % infected farms with only 12-50 % animals excreting the bacterium).

Cuadro 3. Frecuencia de excreción de *L. intracellularis* de cerdos de 6 piaras con dos sistemas de manejo

Table 3. Frequency of *L. intracellularis* fecal shedding in pigs from 6 herds with two different husbandry systems

Weeks of age	Continuous flow				All-in/all-out *			
	Herds		Feces		Herds		Feces	
	+/total	%	+/total	%	+/total	%	+/total	%
4 - 7	4/6	66.6	6/65	9.2	0/7	0	0/60	0
8 - 11	5/5	100.0	9/50	18.0	0/5	0	0/75	0
12 - 15	1/5	20.0	2/30	6.6	2/4	50.0	2/35	5.7
16 - 24	5/6	83.3	9/60	15.0	4/7	57.1	4/70	5.7
Total	15/22	68.18	26/205	12.6 ^a	6/23	26.0	6/240	2.5 ^b

* Up to 11 wk of age followed by continuous flow.

^{a,b} Different superscripts mean significant differences ($P < 0.05$)

retrasan la excreción de la bacteria hacia la etapa de la engorda. Además hubo más infecciones en las etapas de desarrollo, crecimiento y engorda debido al mezclado de los animales^(12,24).

Cuando se analizó el patrón de excreción con relación al sistema productivo, se encontró que cuando era en flujo continuo, en que constantemente se estaban introduciendo animales de diferentes edades a una sala de producción, más cerdos excretaron la bacteria, en comparación con las pjaras manejadas con grupos todo adentro/todo afuera. Esto probablemente fue debido a que la bacteria sobrevive por lo menos dos semanas en el ambiente, manteniéndose las instalaciones contaminadas, aunadas al estrés del mezclado de los animales⁽²⁵⁾.

Se debe tomar en cuenta que los resultados negativos pudieron ser debidos a que los cerdos pueden estar infectados, pero la bacteria se excreta de manera intermitente o su multiplicación es inhibida por los medicamentos, o que la bacteria fuera eliminada de manera continua pero las enzimas en las heces la degradan o interfieren con el PCR, o bien que sea eliminada por anticuerpos, tal como se ha señalado en un estudio previo⁽¹⁵⁾.

Se ha sugerido que el ciclo de la bacteria en la pjarra, es que se mantiene en las hembras de cría de la granja, y pasa de manera vertical a los lechones y posteriormente de manera horizontal en cada cambio de etapa productiva. Además, la bacteria puede pasar a otras áreas de la granja por medio de botas y equipo infectado. No se ha tenido éxito al intentar romper el ciclo destetando a los lechones desde los 10 días⁽³⁾.

Los brotes se asocian con la introducción de machos y hembras jóvenes a las granjas y el mezclado con los animales, así como factores estresantes como cambios repentinos de clima. Además, los resultados obtenidos por serología con la prueba de inmunofluorescencia indirecta (Ileitest), sugieren que la infección por *L. intracellularis* está ampliamente distribuida. En el 97 % de las granjas muestreadas en México se han encontrado animales con anticuerpos (Carvajal, M.A. comunicación personal), 65 % en Bélgica, 95 % en Holanda, 88 %

For example, in Yucatan, Mexico, 40 % (8/20) of the herds contained animals shedding *L. intracellularis*⁽¹⁶⁾; in the US 29 %; in Spain 19 %; in Denmark 30 %; in Venezuela 60 %; in Korea 20 %; in Italy 24 %, in Taiwan 40 %, and in Mexico 23 %^(12-15, 19-23).

No farms were detected shedding *L. intracellularis* at the same time in all production stages. Shedding was typically found in only one stage. The highest number of herds with pigs shedding *L. intracellularis* occurred after weaning, even though the proportion of pigs excreting the bacterium was the lowest (9.3 %) in this stage. Nevertheless, during the grow-finish period, the number of herds shedding *L. intracellularis* was the lowest, but it was detected in 22 % of the samples. These results are consistent with those reported in an earlier study⁽¹³⁾.

This increased frequency in the period between weaning and grow-finish, could have been due to vanishing maternal immunity or to the fact that the feed was typically being medicated with antimicrobials such as tylosin, lincomycin, spectinomycin, and oxytetracycline. This practice delays bacterial shedding towards the grow-finish period. In addition, infection rate was increased in the rearing, growing, and finishing stages, due to animal commingling^(12,24).

When the shedding pattern was analyzed in relation with the production system, continuous flow farms (constant introduction of different animals to one production pen) more pigs were shedding the bacterium than in all-in/all-out farms. This was probably due to the fact that *L. intracellularis* survives for at least 2 wk in the environment of the contaminated facilities, together with the stress associated with animal mixing⁽²⁵⁾.

Negative results could be attributed to the fact that even though pigs can be infected, *L. intracellularis* is excreted in the feces intermittently, or its multiplication can be inhibited by drugs, or it could have been continuously excreted but degraded by fecal enzymes, or interference with PCR might have existed, or the bacterium could have been eliminated by antibodies as reported in an earlier research⁽¹⁵⁾.

en Francia y 90 % en España^(24,26). Estos resultados sugieren que probablemente además de *L. intracellularis*, se necesiten otros factores concomitantes para que los cerdos excreten la bacteria, y que pueda ser detectada por PCR y que los cerdos desarrollen la enfermedad.

AGRADECIMIENTOS

Parte de este trabajo fue financiado por CONACYT y Elanco Animal Health. Los autores agradecen la asistencia técnica de la MVZ Patricia Ojeda Zepeda.

LITERATURA CITADA

1. McOrist S, Gebhart CJ, Boid R, Barns SM. Characterization of *Lawsonia intracellularis* gen. nov., sp. nov., the obligately intracellular bacterium of porcine proliferative enteropathy. *Int J Sys Bacteriol* 1995;45:820-825.
2. Rowland AC, Lawson GHK. Porcine proliferative enteropathies. In: Leman AD, Straw BE, Mengeling WL, Allaire SA, Taylor DJ editores. *Diseases of swine*. 7ª ed. Ames Iowa, USA: Iowa State University Press; 1992:560-569.
3. Winkelman NL. Ileitis. *The Compendium* January. *Food Anim* 1996;19-25.
4. McOrist S, Smith SH, Green LE. Estimate of direct financial losses due to porcine proliferative enteropathy. *Vet Rec* 1997;140(22):579-581.
5. Biester HE, Schwarte CH. Intestinal adenoma in swine. *Am J Pathol* 1931;7:175-185.
6. Stephano HA. Enteropatía proliferativa porcina en México. En: Morilla GA, Correa GP, Stephano HA editores. *Avances en enfermedades del cerdo*. México (DF). Asociación Mexicana de Veterinarios Especialistas en Cerdos, AC, 1985:393-397.
7. Jones GF, Ward GE, Murtaugh MP, Lin G, Gebhart CJ. Enhanced detection of intracellular organism of swine proliferative enteritis, Ileal Symbiont Intracellularis, in feces by polymerase chain reaction. *J Clin Microbiol* 1993;31:2611-2615.
8. McOrist S, Gebhart CJ, Lawson GHK. Polymerase chain reaction for diagnosis of porcine proliferative enteropathy. *Vet Microbiol* 1994;41:205-212.
9. Jordan DM, Knittel JP, Roof MB, Schwartz K, Larson D, Hoffman LJ. Detection of *Lawsonia intracellularis* in swine using polymerase chain reaction methodology. *J Vet Diag Invest* 1999;11(1):45-49.
10. Lawson GHK, McOrist S, Rowland AC, McCartney E, Roberts L. Serological diagnosis of the porcine proliferative enteropathies: implications for aetiology and epidemiology. *Vet Rec* 1988;122:554-557.
11. Untersperger M, Dunser M, Schweinghardt H, Schuh M, Award-Masalmeh M. Evaluation of different methods for detection of

The cycle of *L. intracellularis* in the herd has been suggested to include bacterial maintenance in the sows with vertical transmission to the piglets followed by horizontal transmission in each production stage. In addition, *L. intracellularis* can pass to other areas within the farm by infected boots/equipment. Attempts to brake the cycle by weaning the piglets as early as 10 d has been unsuccessful⁽³⁾.

Ileitis outbreaks have been associated with the introduction of young males and females to the herds, and their commingling with other animals, as well as with stress factors such as sudden weather changes. In addition, indirect immunofluorescence (Ileitest) results suggest that the infection is ubiquitous. Animals with antibodies were detected in 97 % of the farms sampled in Mexico (Carvajal, M.A. personal communication), 65 % in Belgium, 95 % in the Netherlands, 88 % in France, and 90 % in Spain^(24,26). These results suggest that probably other concurrent factors –in addition to *L. intracellularis*– are needed for pigs to shed the bacterium in the feces, for them to develop the disease, and for *L. intracellularis* to be detected by PCR.

ACKNOWLEDGEMENTS

This research was partly financed by Mexico's National Science and Technology Council (CONACYT), and Elanco Animal Health. The authors thank Patricia Ojeda Zepeda, DVM, for her technical assistance.

End of english version

-
12. Lawsonia intracellularis [abstract]. The 16th international pig Society Congress. Melbourne, Australia. 2000:236.
 13. Lanza I, Pozo J, Muñoz M, Rubio P, Cármenes P. Epidemiological study of porcine proliferative enteropathy in Spain [abstract]. Proc 14th International Pig Veterinary Society Congress. Bologna, Italy. 1996:259.
 14. Moller K, Jensen TK, Jorsal SE. Detection of *Lawsonia intracellularis* in endemically infected herds [abstract]. Proc 15th International Pig Veterinary Society Congress. Birmingham, England. 1998:63.

14. Bane D, Gebhart CJ, Gardner I. 1997. Epidemiology of porcine proliferative enteropathy: A case control study. *Proceedings Amer Assoc Swine Pract* 1997;27:429-431.
15. Smith SH, McCorist S. Development of persistent intestinal infection and excretion of *Lawsonia intracellularis* by piglets. *Res Vet Sci* 1997;62:6-10.
16. Rodríguez-Buenfil JC, Álvarez-Fleites MJ, Gómez-Medina RM. Identificación de *Lawsonia intracellularis* en 20 granjas porcinas del estado de Yucatán. *Rev Biomed* 2000;11:271-275.
17. Boom R, Sol CJA, Salimans MMM, Jansen CL, Wertherm Van Dillen, Van der Noordaa J. Rapid and simple method for purification of nucleic acids. *J Clin Microbiol* 1990;28:495-503.
18. García CL, Socci EG, Barrón FL, Arriaga DC, Morilla GA. Diagnóstico de ileítis porcina por medio de la reacción en cadena de la polimerasa. *Vet Méx* 1998;29(3):263-267.
19. Chang-WL, Wu-CF, Wu-Y, Kao-YM, Pan-MJ. Prevalence of *Lawsonia intracellularis* in swine herds in Taiwan. *Vet Rec* 1997;141(4):103-104.
20. Socci EG, Ojeda ZP, Diosdado VF, Arriaga DC, Morilla GA. Frecuencia de ileítis porcina en granjas de ciclo completo [resumen]. XXXII Congreso nacional de la asociación mexicana de veterinarios especialistas en cerdos. Ixtapa, Gro. 1997:135.
21. Kim O, Kim B, Chae C. Prevalence of *Lawsonia intracellularis* in selected pig herds in Korea as determined by PCR. *Vet Rec* 1998;143(21):587-589.
22. Sala V, Magistrali C, Paolini M. *Lawsonia intracellularis*. Role and importance in intestinal diseases in Italian heavy pigs. (*Lawsonia intracellularis*. Ruolo e importanza nelle enteropatie del suino pesante italiano). *Summa* 1998;15(6):39-42.
23. Kwiecien EJ, Bermudez V, McOrist S. Detection of *Lawsonia intracellularis* in Venezuela pigfarms. *Proc Am Assoc Swine Pract* 2001;32:247-249.
24. Neiryneck W, Bradford JR. Apparent elimination of *Lawsonia intracellularis* from a multiplier [abstract]. *Proc 2nd International Swine Disease Eradication Symposium*, St. Paul, Minnesota, USA. 2002:23.
25. Collins, and McOrist S. Studies on the ex vivo survival of *Lawsonia intracellularis*. *Swine Health and Production*. 2000;8(5):211-225.
26. Chouet S, Prieto C, Mieli L, Veenhuizen MF, McOrist S. Patterns of exposure to *Lawsonia intracellularis* infection on European pig farms. *Vet Rec* 2002;152:14-17.