

# Enteritis en lechones por *Clostridium perfringens*: estudio epizootiológico y patológico de diversos brotes.

**Resumen:** Se realizan estudios epizootiológicos, patológicos y microbiológicos de 41 brotes de enteritis por *Clostridium perfringens* en lechones, localizados en diferentes regiones españolas.

En la mayoría de los brotes, el proceso se presentó a una determinada edad de los lechones: primeros días de vida, segunda semana al destete y post-destete, afectándose en algunos casos animales de diferentes edades. Los índices de enfermedad son muy variables entre los distintos brotes, apreciándose una media de camadas afectadas del  $51,14 \pm 16,56$ , con una morbilidad y mortalidad respectivamente del  $59,63 \pm 21,19$  y  $21,34 \pm 16$ , observando una disminución de las tasas de mortalidad a medida que aumenta la edad. La enfermedad tiene un carácter enzoótico, con una mayor frecuencia de presentación durante los meses de febrero-marzo y octubre-noviembre.

El cuadro clínico de la enfermedad se define como un síndrome entérico de carácter diarreico típico, con formas de evolución sobreagudas, agudas y subagudas, que corresponden lesionalmente a una enteritis necrótico-hemorrágica que afecta fundamentalmente a últimos tramos de intestino delgado y, en ocasiones, al intestino grueso.

Las veintitrés cepas tipificadas de *Clostridium perfringens* correspondieron al tipo C, apreciándose en las restantes una baja o nula capacidad toxigénica.

**Palabras Clave:** Enteritis. *Clostridium perfringens*. Lechón.

## INTRODUCCION

Los procesos entéricos, tanto de origen infecciosos como parasitarios, representan sin duda el síndrome de mayor incidencia y, posiblemente, repercusión económica de cualquier especie y explotación ganadera, siendo normalmente los jóvenes los más afectados.

En la especie porcina, los cuadros entéricos asociados a *Cl. perfringens*

se venían relacionando sistemáticamente hasta hace pocos años con procesos sobreagudos-agudos enterotoxémicos en reproductores y animales en cebo y, de forma esporádica, con cuadros de enteritis necrótico-hemorrágica en lechones.

Bajo aspectos meramente clínicos y lesionales, la enteritis necrótico-hemorrágica en lechones por *Cl. perfringens* es conocida desde hace bastante tiempo. Sin embargo, su etiología fue defi-

Perea, A. (1), Morales, J.L. (1), Miranda, A. (1), Arenas, A. (1), Hermoso de Mendoza, M. (1), Fernández, A. (2), Píriz, S. (1), Gómez, J.C. (2).

(1) Departamento de Patología Infecciosa. Facultad de Veterinaria. Córdoba.  
(2) Departamento de Histología y Anatomía Patológica. Facultad de Veterinaria. Córdoba.



por Peter Høgh (1965-1974) sobre brotes aparecidos en Dinamarca, analizando su epizootiología, patología, diagnóstico, control y lucha.

Posteriormente han sido múltiples los estudios y notificaciones de la enfermedad en lugares muy distantes del mundo: E.E.U.U. (3), R.D.A. (11), Japón (1), Noruega (7), Italia (17), Holanda (12), Francia (21) y Bulgaria (8).

En España, sólo encontramos referencias sobre esta enfermedad de Plana y cols. (1983), sobre brotes diagnosticados en Cataluña, y de Perea y cols. (1986) y Riera y cols. (1986) que, en el 9.º Congreso Internacional Porcino, celebrado en Barcelona, describen numerosos brotes.

A partir de octubre de 1983, comenzamos a observar un incremento notable en la presentación por todo el territorio nacional de cuadros entéricos en lechones, de muy diverso grado y curso, presumiblemente asociados a *Cl. perfringens*, hecho que nos indujo a realizar estudios epizootiológicos, patológicos y microbiológicos sobre estos brotes (Morales, 1986).

## MATERIAL Y METODOS

### Material patológico

Se han analizado lechones procedentes de 41 explotaciones sospechosas de enteritis necrótico-hemorrágica por *Cl. perfringens*. De las necropsias realizadas tomamos material patológico de acuerdo con las pautas marcadas por numerosos autores (10, 14, 19).

El diagnóstico presuntivo se ha realizado de acuerdo con los siguientes puntos: historial clínico-epizootiológico, cuadro anatomopatológico y polución de bacilos similares a *Cl. perfringens* en mucosa intestinal y en otros órganos.

### Estudio microbiológico

#### Aislamiento e identificación

A partir de diversos tramos de mucosa intestinal, hígado, bazo, pulmón y riñón se realizaron técnicas de tinción GRAM (modificación Hucker's), así como tinciones para la demostración de esporos (método Dorner) y de cápsulas (método Leifson).

El aislamiento de *Cl. perfringens* se llevó a cabo en medios de cultivo sólidos, bien en picadura — medio TSN— o en superficie — agar lactosa yema neomicina— (19). Como medio de mantenimiento de las cepas aisladas se ha utilizado el caldo V.F. (19). La identificación bioquímica se realizó en las gallerías API 20 anaerobios (5).

#### Tipificación

Para obtener las exotoxinas a partir de las cepas ya identificadas, se siembran en caldo V.F. glucosado al 1%, incubando durante 6 horas a 37° C en anaerobiosis. El cultivo se centrifuga a 5.000 r.p.m. durante 30 minutos, y el sobrenadante resultante se filtra por discos Millipore 0,22 µm, ajustando el pH entre 6,8 y 7,2. El filtrado se divide en dos fracciones y una de ellas se trata con tripsina a la proporción de 10 mg. por cada ml. de caldo, llevándose a 37° C durante 45 minutos. Ambos filtrados se mantienen a -20° C hasta su utilización (18, 19).

Para la tipificación se ha seguido el esquema descrito por Sterne y Batty (1978). A partir del filtrado tripsinizado y sin tripsinizar, y los antiseros A, C, D y E se realizan mezclas que son inoculadas a ratones vía intraperitoneal (0,5 ml.). Los resultados — muerte o prevención de ésta— se observan a las 24 horas siguientes.

### Estudio epizootiológico

El estudio epizootiológico se ha basado en la recogida de los siguientes datos:

- Distribución geográfica.
- Época de presentación.
- Edad de los animales afectados.
- Porcentaje de camadas afectadas.
- Morbilidad.
- Mortalidad.

### Estudio clínico y lesional

El estudio clínico de los brotes analizados se realizó en base a las anamnesis elaboradas por los veterinarios que asistían estas explotaciones, a la observación directa en el Departamento de Enfermedades infecciosas de la Facultad de Veterinaria de Córdoba e «in situ» en las granjas afectadas.

Para el estudio histopatológico las muestras fueron fijadas en formol al 10% y se procesaron según el método

usual de microscopía óptica. Los cortes realizados fueron teñidos con las técnicas de hematoxilina-eosina, P.A.S. y P.T.A.H.

## RESULTADOS Y DISCUSION

La detección de los 41 brotes de enteritis en lechones por *Cl. perfringens* incluidos en el presente estudio, junto a los brotes diagnosticados por Plana y cols. (1983) y Riera y cols. (1986), confirman la cada vez más elevada presentación de esta enfermedad en nuestro país. De esta forma nos sumamos al resto de naciones donde el proceso también ha sido recientemente diagnosticado (7, 17, 1, 12, 21, 8), constataando en todos ellos un incremento de dichos cuadros frente a otras etiologías de origen infeccioso hasta el momento más frecuentes dentro de la patología neonatal de la especie porcina.

Como se puede observar en la Fig. 1, los brotes diagnosticados en nuestro estudio se localizaron en la Comunidad Valenciana (20 focos), Andalucía (17), Extremadura (2), Castilla-La Mancha (1) y Baleares (1 foco). Destaca la provincia de Castellón, donde se situaron 18 brotes. Andalucía ocupa, posiblemente por la lógica mayor presión analítica, la segunda zona en nuestro país con mayor densidad de casos.

Los trabajos realizados por Plana (13) y Riera (16) también localizan sus brotes en la Comunidad Valenciana o en Cataluña. Estos hechos nos llevan a considerar, presumiblemente, a la Comunidad Valenciana y Andalucía como áreas de alto riesgo e incidencia de la enfermedad, sin olvidar su difusión por

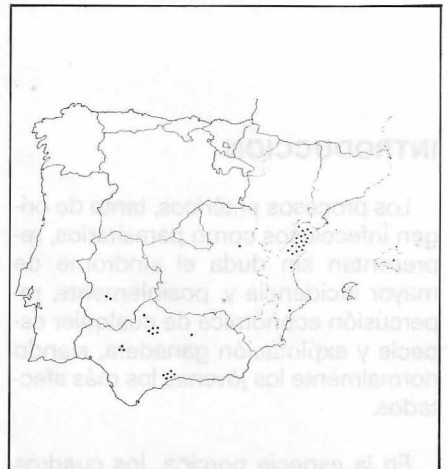


Fig. 1. Distribución de brotes.



otras regiones, como también lo indica Hogh (9) en sus estudios sobre brotes aparecidos en Dinamarca, y donde demuestra, que, si bien la enfermedad era inicialmente endémica en una zona muy localizada, con el tiempo se extendió por todo el territorio nacional, aunque la incidencia siempre era mayor en las zonas donde se diagnosticaron los primeros brotes.

El proceso es observado por determinados investigadores (6, 8, 16) de forma casi exclusiva en lechones de primera semana de vida, como ha ocurrido en catorce de los brotes diagnosticados en este estudio (grupo I), mientras que en otros nueve (grupo IV y VI), si bien los lechones afectados eran fundamentalmente de primeros días, también padecían el proceso animales de segunda-tercera semana de edad y postdestete, circunstancia también indicada por algunos autores (1, 21) (fig. 2).

Sidoli y Guarda (1982), sólo observan los procesos entéricos por *Cl. perfringens* en lechones de 7 a 12 días, al igual que ocurre en diez de nuestros brotes (grupo II).

Por otra parte, coinciden la mayoría

de las investigaciones (9, 17, 21) en la presentación esporádica de este proceso en lechones ya destetados, y si se producen, están incluidos en brotes donde fundamentalmente enferman lechones de menos de tres semanas de vida, como ocurre en los cinco brotes que incluyen los grupos V y VI. Destacamos en este estudio seis brotes (grupo III) donde sólo lechones entre cinco y diez días postdestete eran los que sufrían los cuadros diarreicos, de carácter normalmente subagudos.

Los índices de enfermedad han sido muy variables entre los diferentes brotes. Sin embargo, el número elevado de focos detectados y los grupos establecidos según la edad de los lechones, puede permitirnos llegar a ciertas conclusiones (fig. 3). En relación al porcentaje de camadas afectadas, podemos observar que no existen diferencias significativas entre el grupo I —correspondiente a brotes en los que sólo se afectaron animales de menos de una semana de vida— ( $50,71 \pm 13,34$ ) y el grupo II —correspondiente a brotes en los que sólo se afectaron lechones desde la segunda semana de edad hasta el destete— ( $53 \pm 18,05$ ), e incluso es muy similar a la media total de camadas afectadas ( $51,14 \pm$

$16,56$ ), el cual queda situado entre los valores dados en otros países (4, 9).

Los índices de morbilidad de los grupos I y II son igualmente similares ( $66,42 \pm 21,19$  y  $68 \pm 18,56$ ), mientras que en el grupo III (brotes de lechones postdestete) es significativamente inferior ( $24,16 \pm 13,66$ ). En este sentido, es evidente que los índices de mortalidad en estos tres grupos de edad (I:  $32,42 \pm 21,41$ ; II:  $17,50 \pm 8,73$ ; III:  $15 \pm 5,77$ ) disminuyen a medida que aumenta la edad, posiblemente debido a una mayor inmunidad local y a una capacidad de regeneración epitelial más elevada a medida que aumenta la edad de los lechones (1, 9).

Las frecuencias globales de morbilidad halladas en nuestro estudio ( $59,63 \pm 21,19$ ) son relativamente similares a las observadas por Hogh (9) en Dinamarca y por Sidoli y Guarda (17) en Italia.

La mortalidad total encontrada por nosotros ( $21,34 \pm 16$ ) está situada dentro de las dadas por otros autores, muy variables, y que oscilan entre el 2,3% (4) y el más del 50% (9, 8, 16).

El carácter enzoótico de la enteritis necrótico-hemorrágica en lechones por *Cl. perfringens* es un hecho indiscutible (9, 11), y que confirmamos en el presente estudio al presentarse de forma reiterada e incidiosa un número variable de casos a lo largo de los ciclos de producción, independientemente de las medidas inmunoprolifácticas e higiénico sanitarias aplicadas.

En la figura 4 se puede observar la época de presentación de cada uno de los brotes durante el período de estu-

Fig. 2. Número de brotes según edad de los lechones.

| 1ª SEMANA       | 2ª SEMANA-DESTETE | POSTDESTETE      |
|-----------------|-------------------|------------------|
| 14<br>(grupo I) | 10<br>(grupo II)  | 6<br>(grupo III) |
| —               | 6<br>(grupo IV)   | —                |
| —               | —                 | 2<br>(grupo V)   |
| —               | 3<br>(grupo VI)   | —                |

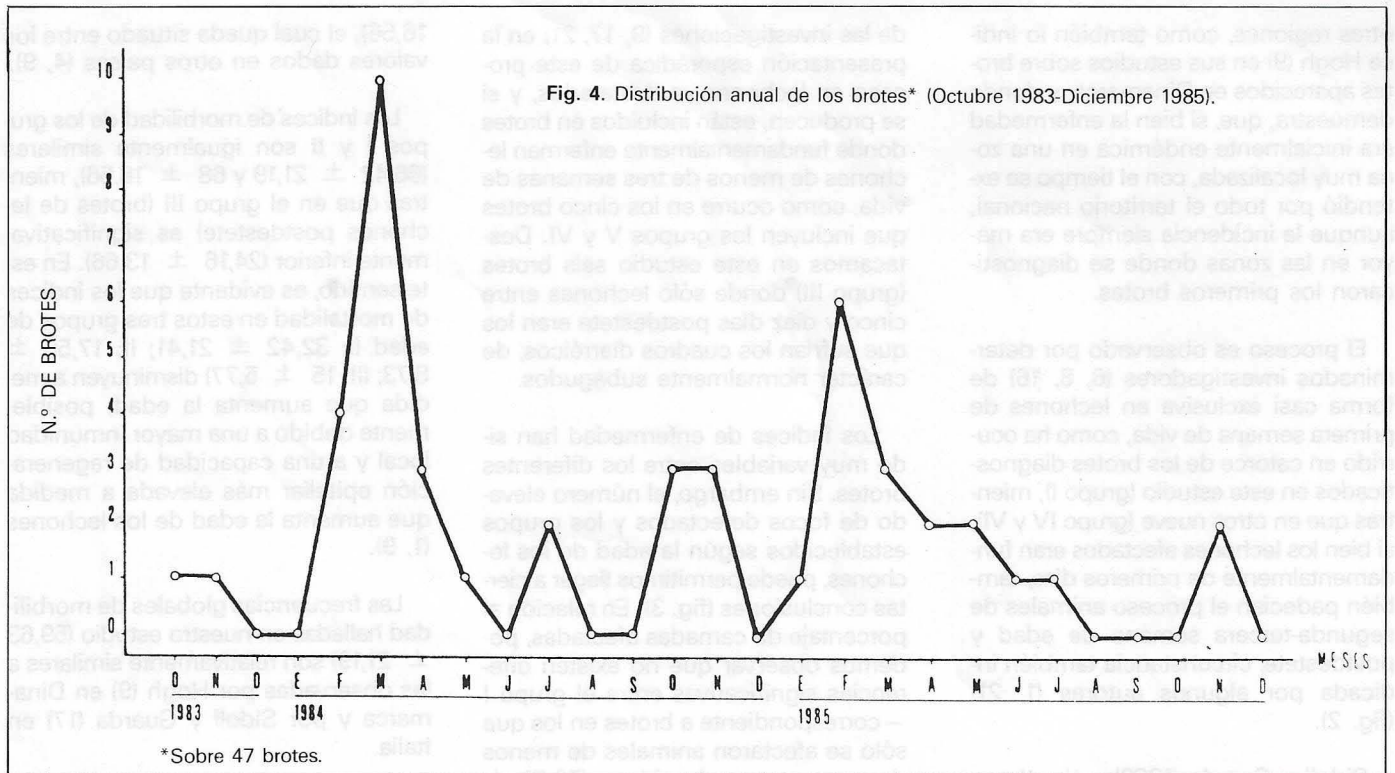
Fig. 3. Índice de camadas afectadas, morbilidad y mortalidad por grupos.

| GRUPOS DISTINTAS EDADES | MEDIA DE FRECUENCIA DESVIACION TIPICA (x S) |                        |                     |
|-------------------------|---|------------------------|---------------------|
|                         | CAMADAS AFECTADAS                           | MORBILIDAD             | MORTALIDAD          |
| GRUPO I                 | $50,71 \pm 13,34$                           | $66,42 \pm 14,56$      | $32,42 \pm 21,41$   |
| GRUPO II                | $53 \pm 18,05$                              | $68 \pm 18,86$         | $17,50 \pm 8,73$    |
| GRUPO III               | —   | $24,16 \pm 13,66$      | $15 \pm 5,77$       |
| GRUPO IV                | $63,33 \pm 14,90$                           | $66,6 \pm 12,13$       | $17,50 \pm 10,30$   |
| GRUPO V                 | 30  | 30                     | 15                  |
| GRUPO VI                | $36,66 \pm 4,71$                            | $73,33 \pm 8,49$       | $11,77 \pm 8,49$    |
| TOTAL                   | $51,14 \pm 15,56^*$                         | $59,63 \pm 21,19^{**}$ | $21,34 \pm 16^{**}$ |

\*Sobre 35 focos.

\*\*Sobre 41 focos.





dio (octubre de 1983 a diciembre de 1985). La enfermedad, como vemos, se puede presentar en cualquier época del año, aunque exista una mayor casuística durante los meses de febrero-marzo (24 brotes) y octubre-noviembre (10 brotes).

Clínicamente, los cuadros de enteritis por *Cl. perfringens* estudiados no difieren de los descritos por el resto de autores (9, 11, 7, 17, 1, 12, 21, 8). Hemos observado las clásicas formas de evolución sobreagudas, agudas y subagudas (2), mientras que la forma crónica, descrita por Hogh y Kohler (11), con diarreas intermitentes de larga duración, no ha sido apreciada en ninguno de los casos estudiados. Los cuadros diarreicos de evolución aguda y subaguda, independientemente de la edad, han sido los de más frecuente presentación, si bien, los lechones de primeros días de vida eran los que padecían con mayor asiduidad los cuadros agudos.

Las formas sobreagudas han sido esporádicas, a excepción de los dos únicos brotes en explotaciones de cerdos Ibérico-Duroc donde sólo se presentó esta forma clínica, y que destacamos tanto por su elevada morbilidad y mortalidad (prácticamente del 100%) como por su evolución tan rápida —de 4 a 6 horas— que incluso

hacia pensar en lechones nacidos muertos.

El estudio lesional lo hemos centrado sólo a nivel intestinal. Macroscópicamente ha sido el intestino delgado, y en especial sus últimos tramos, el más frecuentemente alterado, presentando fenómenos congestivos, así como gran acúmulo de gases en la luz. El contenido intestinal presenta una coloración normalmente amarillo-ocre, aunque otras veces posee una tonalidad verdosa, parda o grisácea. En algunas ocasiones las lesiones no sólo se localizan en el intestino delgado, sino también en el grueso, que aparece de aspecto congestivo y edematoso,

principalmente en sus primeros tramos (fig. 5). De forma esporádica, es el intestino grueso el más afectado, presentando una coloración rojo muy intenso, de aspecto hemorrágico. En estos casos también es frecuente apreciar el acúmulo de gran cantidad de líquido serohemorrágico en la cavidad abdominal.

Al abrir tanto intestino delgado como grueso, también es frecuente observar un engrosamiento de la pared y, adherido a ésta y en la luz intestinal, la presencia de un material de color amarillo y de aspecto pastoso, que al desprenderlo deja zonas erosionadas y rojizas (fig. 6).



Fig. 5. Congestión en los últimos tramos del intestino delgado. En el intestino grueso, congestión y aspecto gelatinoso por el edema.



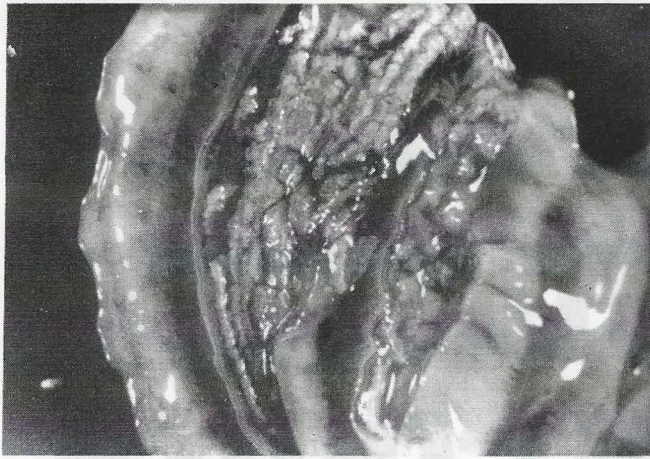


Fig. 6. Intestino grueso: engrosamiento de la pared y adherencia de material denso y amarillento que deja una superficie erosionada y rojiza.

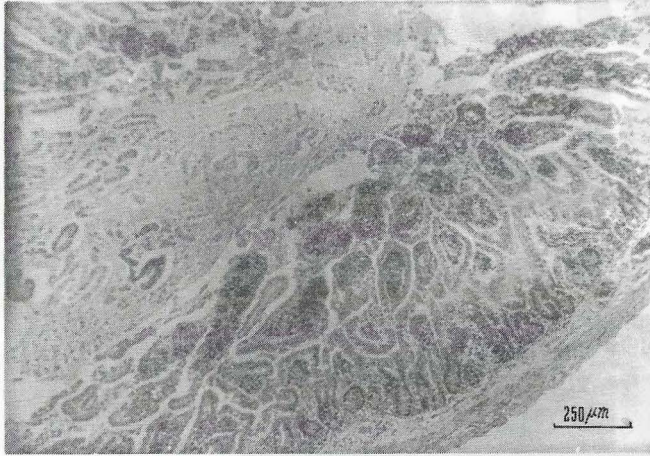


Fig. 7. Intestino delgado: fenómenos de necrosis superficial y masas necróticas en la luz. Hemorragia en mucosa-submucosa. H-E.  $\times 125$ .

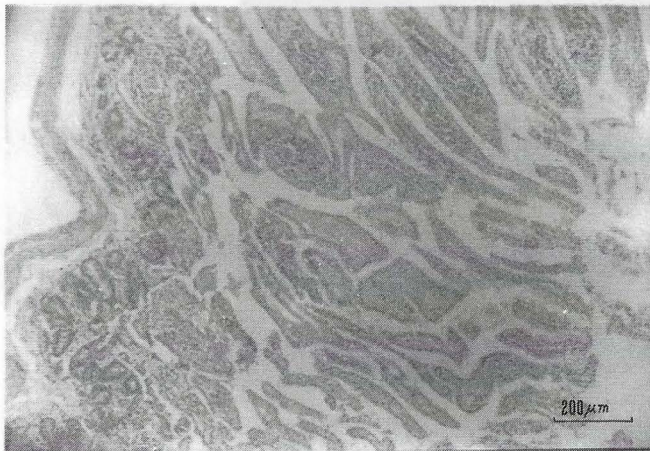


Fig. 8. Necrosis de las vellosidades del intestino delgado. H-E.  $\times 125$ .

A nivel histopatológico, la imagen se corresponde esencialmente a una enteritis necrótico-hemorrágica. Se obser-

van masas acidófilas con restos celulares necróticos en la luz intestinal, así como fenómenos de hiperemia y he-

morragia a nivel de la mucosa (fig. 7). La necrosis puede afectar a las zonas más superficiales de la mucosa o a toda ella. A veces, los fenómenos congestivos-hemorrágicos son menos intensos, predominando la necrosis en diferente grado (fig. 8).

Estas observaciones lesionales, tanto a nivel macroscópico como microscópico, coinciden con las descritas por Hogh, Vaissaire, Sidoli, Azuma, etc., que indican que en un más del 50% de los casos la lesión corresponde a una enteritis necrótico-hemorrágica, si bien, puede variar desde una enteritis necrótica sin hemorragias a una enteritis hemorrágica sin necrosis, habiendo sido observado este último tipo de forma muy ocasional por nosotros.

De las 35 cepas identificadas con garantía como *Cl. perfringens* sólo pudieron ser tipificadas 23 de ellas, comprobando mediante las técnicas de seroneutralización en ratones, que todas correspondían al tipo C, confirmando así (9, 7, 1, 21, 8, 16) que este tipo es el predominante en la enfermedad, frente a los tipos A o B encontrados con mayor frecuencia por Kohler (11) en Alemania, Nabuurs (12) en Holanda y Plana (13) en España.

El hecho de que algunas cepas no hayan podido ser tipificadas mediante la técnica de seroneutralización en ratones empleada por nosotros, puede estar en relación a la existencia de cepas atípicas poco toxigénicas (15) y a la posible inactivación de algunas toxinas por enzimas proteolíticas producidas en alta cantidad en medios de cultivos ricos en proteínas (18), aspectos estos muy interesantes y que debieran de investigarse con mayor profundidad.

Nuestro agradecimiento a los Ldos. L. Carrasco, J. Salvador, J. Rodríguez y J.M. Ortiz, por su ayuda técnica en la detección y seguimiento de los brotes.

**Summary:** Epizootiological, pathological and microbiological studies were carried out 41 outbreaks of enteritis caused by *Clostridium perfringens* in suckling pigs, in the following regions: Valenciana (20 cases), Andalucía (17), Extremadura (2), Baleares (1) and Castilla-La Mancha (1).



In most of the outbreaks, the process was found to occur at a given age: the first days of life, the second week after weaning, and in the postweaning period. In some cases, animals of different ages were affected. There was a considerable variation among disease indices in different outbreaks, and the mean number of litters affected was  $51,14 \pm 16,56$ , with disease and death rates of  $59,14 \pm 21,19$  and  $21,34 \pm 15$ , respectively. Death-rate was found to diminish as age increased. The disease is enzootic in nature, and occurs more frequently in February-March and October-November.

The disease manifests itself in a diarrhoea-type enteritic syndrome, with superacute, acute and subacute forms of evolution, which correspond—in terms of lesions—to a necrotic-hemorrhagic enteritis affecting primarily the final sections of the small intestine, and, occasionally, the large intestine.

The twenty-three strains of *Clostridium perfringens* typified were found to correspond to type C, whilst little or no toxigenic capacity was found in the remainder.

## BIBLIOGRAFIA

1. Azuma, R., Hamaoka, T., Shioi, H., Tanji, T., Yamaguchi, H., Shiga, K. and Kondo, F.: Case report of Necrotic Enteritis in neonatal pigs caused by *Clostridium perfringens* type C. *Jpn. J. Vet. Sci.* 45., 135-137 (1983).
2. Barnes, D.M. and Bergeland, M.E.: *Clostridium perfringens* type C enteritis. Diseases of swine, 3rd ed. 468-475 Ed. H.W. Dunne, (1970).
3. Barnes, D.M. and Moon, H.W.: Enterotoxemia in pigs due to *Cl. p.* type C. *Jour. Amer. Vet. Med. Assn.* 144, 1391-94 (1964).
4. Bussian, E. and Seifarth, D.: Control of clostridial enteritis of sucking piglets (haemorrhagic necrotic enteritis) in a breeding unit with 1.000 animals. *Nonats-hefte fur Veterinarmedizin* 33, 260-262 (1978).
5. Drugeon, H., Billaudel, S. et al. Courtieu: Utilization d'une micro-galerie pour l'identification des bactéries anaérobies. *Ann. Biol. Clin.* 35, 409-414 (1977).
6. Field, H.J. and Gibson, E.A.: Studies on piglet mortality. II. *Clostridium welchii* infection. *Vet. Tec.* 67, 31 (1955).
7. Forus, I., Alfredsen, S.A. and Nigaard, S.: Outbreak of necrotic enteritis in piglets (in Norway). *Norsk Veterinaertidskrift* 93, 683-687 (1981).
8. Ganovsky, D., Dikova, Ts. and Sholev, K.H.: Anaerobic (clostridial) dysentery in piglets. *Veterinarno-meditsinsk Nauki* 21, 34-39 (1984).
9. Hogh, P.: Porcine infectious necrotizing enteritis, caused by *Clostridium perfringens*. Tesis Doctoral. Ed. Carl Fr. Montense. Dinamarca. (1974).
10. Katitch, R.V.: Les Maladies des Animaux Domestiques causées par les Microbes Anaérobies. Vigot Frères Edit. Paris (1965).
11. Kohler, B., Zabke, J., Sondermann, R., Pulst, H. and Rummeler, H.J.: Necrotic enteritis (*Clostridium perfringens* type C enterotoxaemia) among unweaned piglets in large pig-breeding unit. V. Disease control. *Archiv fur Experimentelle Veterinarmedizin* 33, 595-619 (1979).
12. Nabuurs, M.J.A., Haagsma, J., Molen, E.J. and Heijden, Ph. J.: Diarrhea in one to three week-old piglets associated with *Cl. perfringens* type A. *Ann. Rech. Vet.* 14, 408-411 (1983).
13. Plana Durán, J., Ruiz, L., y Villa, X.: Enteritis en lechones producidas por *Welchia perfringens* tipo A. VI Simposium Internacional de la A.M.V.M.I. Ed. Laboratorios Sobriño. Barcelona (1983).
14. Pohl, P., et Thomas, J.: Revue des Techniques Simples d'Isolement et d'Identification des Principaux Germes Anaérobies Sporulés á Gram Positif. *Ann. Med. Vet.* 6, 422-447 (1966).
15. Rivera, E. and Abaas, S.: Detection and quantitation of *Clostridium perfringens* type C toxin in tissue culture. Proceeding International Pig Veterinary Society. 9th Congress, 171. Barcelona (1986).
16. Riera, P., Costa, Ll., Casadevall, P. y Vendrell, J.: Enterotoxemia en lechones provocada por *Clostridium perfringens* tipo C. Estudios Clínicos y laboratoriales. Proceeding International Pig Veterinary Society. 9th Congress, 170. Barcelona (1986).
17. Sidoli, L. et Guarda, F.: Enteritis necrótica dei Suinetti Sostenuta da *Clostridium perfringens* tipo C. *Schweizer Archiv fur Tierbeilkunde*, 124, 557-565 (1982).
18. Smith, L.: DS. The Pathogenic Anaerobic Bacteria. 2ª ed., Edit. by Charles C. Thomas Publisher Springfield. Illinois. (U.S.A.) (1975).
19. Sterne, M. y Batty, I.: *Clostridium* patógenos. Ed. Acribia. Zaragoza (1978).
20. Szent-Ivanyi, Th. and Szabo, St.: A *Clostridium welchii* type C causing infectious necrotic in newborn piglets. *Magy. Allatory. Lapja.* 10, 403 (1955).
21. Vaissaire, J., Vigouroux, A., Salngardes, F., Sebald, M., Popoff, M.R. et Guillou, J.P.: Entérite nécrósante á *Clostridium perfringens* type C chez le porc. *Bull. Acad. Vét. de France* 56, 401-406 (1983).
22. Morales, J.L.: Estudio microbiológico, epizootiológico y patológico de enteritis en lechones por *Clostridium perfringens*. Tesina de Licenciatura. Córdoba (1986).