

IDENTIFICACIÓN DE CIRCOVIRUS EN UNA PIARA

Favaro, Paula¹, Tonini, María Florencia¹, Prieto, Gabriela¹

¹ *Cátedra de Microbiología, Facultad de Cs. Veterinarias, Universidad Nacional del Litoral*

Área: Ciencias de la Salud

Sub-Área: Veterinaria

Grupo: X

Palabras clave: cerdos, desmedro, circovirosis

INTRODUCCIÓN

El Circovirus porcino (PCV) es un virus pequeño con genoma ADN de cadena simple y circular que produce enfermedad en cerdos de todo el mundo. Se conocen dos tipos: el tipo 1 no es patógeno para éste, fue descubierto en 1974 como un contaminante de las líneas celulares PK-15 de riñón de cerdo. El tipo 2, que provoca el llamado síndrome de desmedro post-destete (PMWS) además de enfermedades inmunodepresivas y respiratorias, fue descubierto en 1991 en Canadá por su asociación con el mencionado síndrome (Faurez y col. 2009). En Argentina los primeros casos de PMWS fueron reportados en una granja de la Provincia de Córdoba en 2002 (Sarradell y col. 2004).

La presentación clínica de PMWS se caracteriza por pérdida de peso, deterioro general de la condición corporal, signos respiratorios, digestivos, ictericia, y efectos inmunosupresores severos. En algunos animales se puede observar un aumento en el tamaño de los linfonodos superficiales. La edad de los animales afectados suele oscilar entre las 5 y las 12 semanas. La morbilidad y la letalidad son muy variables, y se sugieren valores de 4-20% y 70-90%, respectivamente (Sarradell y col. 2004).

Las lesiones asociadas con su presencia incluyen neumonía intersticial granulomatosa a linfocítica, hepatitis, nefritis, miocarditis, enteritis, pancreatitis, hidropericardio, ascitis, presencia de manchas blanquecinas difusas en hígado y riñones, ganglios linfáticos aumentados de tamaño entre otros, e histopatológicamente puede observarse glomerulonefritis, ganglios linfáticos con depleción linfática, neumonía bronco intersticial con infiltrado granulomatoso y células gigantes multinucleadas en ganglios linfáticos. La expresión completa de la enfermedad puede requerir la presencia de otros agentes del complejo respiratorio porcino (CRP). Nuevas investigaciones lo han relacionado con otros desórdenes en cerdos, como abortos y fallas reproductivas (Segalés, 2011).

El PCV2 se asocia con mayor frecuencia a células tales como macrófagos, monocitos y células dendríticas. A pesar de este tropismo, el virus no replica en estas células, sino en células de endotelio y epitelio intestinal (especialmente cuando sufren una reacción inflamatoria). En células dendríticas provoca un perjuicio sobre su maduración de manera que se desarrollan respuestas inmunitarias deficientes frente a otros patógenos. Sin dudas el mayor inconveniente de la infección es la inmunodepresión, que permite que se instalen enfermedades asociadas a PCV2 (PCVAD) (Noriega y col. 2007).

OBJETIVO

Proyecto: CAI+D “Estudio de agentes virales y bacterianos responsables del complejo respiratorio que afectan a la salud porcina”

Director del proyecto: Humberto Occhi

Director del becario/tesista: Humberto Occhi

El objetivo de este trabajo fue demostrar la presencia de PCV-2 en cerdos con enfermedad respiratoria y pérdidas en la ganancia de peso en una granja de la región.

METODOLOGÍA

En una granja de 50 madres situada en la localidad de Clason, Santa Fe, se registró un aumento en la presentación clínica de un síndrome de desmedro con signología respiratoria y muertes en cerdos de 6 – 12 semanas de vida en la etapa post-destete. Los afectados eran el 20% de los animales en esta etapa.

En el establecimiento se detuvo la vacunación contra PCV2 en las madres debido a razones económicas y meses después comenzaron a aparecer los casos.

Se realizó la necropsia de 8 cerdos, uno de ellos había muerto a causa de la enfermedad y el resto fueron sacrificados. Durante la misma, se evaluaron lesiones macroscópicas y se tomaron muestras de pulmones, bazo, ganglios, riñón, intestino e hígado de los animales. Se enviaron en formol al 10% al laboratorio de Histopatología de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad Nacional del Litoral para observar alteraciones microscópicas. Allí fueron coloreados con hematoxilina eosina y tinciones especiales para ser observadas y describir las lesiones microscópicas.

En el laboratorio de Virología se realizó la técnica de inmunofluorescencia directa (IFD), para esto se usaron improntas de los órganos (bazo, hígado y ganglio) y se tiñieron con antisuero policlonal anti-PCV2 conjugado con isotiocianato de fluoresceína de origen comercial VMRD (N° cat: PAB-PCV2) y posteriormente se observaron en el microscopio fluorescente. Además, para confirmar la presencia del virus, se realizó PCR (reacción en cadena de la polimerasa) sobre las muestras según el siguiente protocolo: extracción del ADN con el método Wizard Genomic DNA Purification Kit Cat.#A1120 sobre tejido animal fresco o descongelado, se homogeneizó con la solución lisis núcleo con el microprocesador (dispenser), se le agregó la precipitación de proteínas con la solución ARNasa, seguido de la deshidratación con isopropanolol y etanol 70% y finalmente la hidratación con la solución re hidratante de ADN. La amplificación del material genético obtenido se realizó utilizando primers específicos CVF: CGA GAA AGC GAA AGG AAC AGA, y CVR: GGT AAC CAT CCC ACC ACT T durante 3hs en el termociclador y el tamaño del producto amplificado es 371 pb. La electroforesis o corrida en un gel de agar a 35 MV, 400 MA, durante 40 minutos y por ultimo lectura en transiluminador.

RESULTADOS

Entre las lesiones macroscópicas halladas se destacan manchas blanquecinas de 0,5cm de diámetro distribuidas en toda la superficie del hígado. El riñón poseía marcada palidez. Se encontraron adherencias entre pleura parietal y visceral y congestión pulmonar. Hiperplasia de ganglios mesentéricos. En el estómago se observa la presencia de una úlcera perforante única de 4cm de diámetro.

Histopatológicamente se observó marcada tumefacción de hepatocitos que comprimen el conjuntivo interlobulillar alterando la estructura normal de hígado y núcleos hipertróficos y éstasis biliar canalicular. En riñón marcada tumefacción de epitelios tubulares, presencia de inclusiones basófilas en el citoplasma de histiocitos. En ganglio linfático mesentérico se encontró marcada necrosis de linfocitos difusa. En uno de los ganglios la lesión es más severa con presencia de bacterias en senos. El bazo presentaba depleción y necrosis de linfocitos en pulpa blanca, presencia de polimorfonucleares y cuerpos de inclusión en histiocitos. En intestino mucosa con atrofia y necrosis en sectores de vellosidades, infiltrados en lámina propia y necrosis de linfocitos en placas de Peyer en la submucosa. Necrosis del epitelio, infiltrados de

eosinófilos en lámina propia y presencia de micro abscesos en submucosa, en área de nódulos linfáticos de intestino grueso.

Los resultados de IFD fueron positivos para PCV-2 en todas las muestras, observándose la tinción característica de particulado citoplásmico y fluorescencia nuclear densa.

Los productos amplificados mediante PCR fueron comprendidos entre los 300 y 400 pb en el 100% de las muestras (Imagen 1).

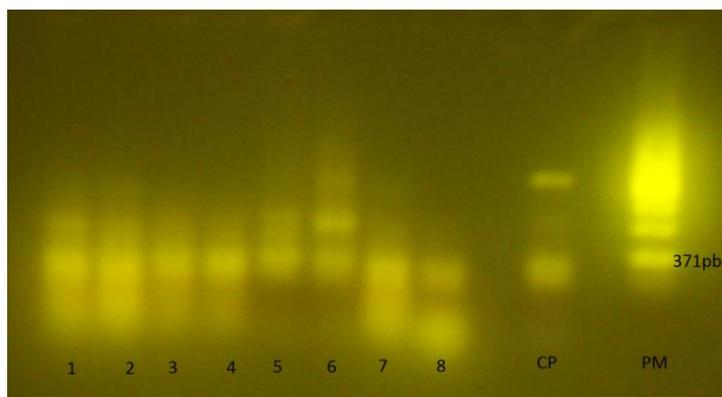


Imagen 1. Electroforesis en gel de agarosa. Calles N° 1 a 8: muestras analizadas por PCR. CP: control positivo. PM: control de peso molecular.

CONCLUSIÓN

Las lesiones macro y microscópicas, la signología y edad de presentación sugieren la acción del PCV2, siendo confirmada su presencia por PCR e IFD. El antecedente de la vacunación es otro dato a tener en cuenta para determinar que el causante del desmedro de los animales es el PCV2. Los resultados indican que en el establecimiento estudiado circula el PCV2, ya sea porque se encontraba presente anteriormente a que se detenga la vacunación o porque ingresó posteriormente a ésta. Aunque en la granja se vacunaban previamente a las madres, se podría pensar que hay una falla en la transmisión de anticuerpos a las crías, ya sea por una mala técnica de vacunación o un error de manejo de los animales que determine una mala inmunidad. Es importante conocer el alcance de esta patología tanto en la salud porcina como en los gastos que genera. Es una de las enfermedades que más cuesta al productor de cerdos en la actualidad, no solo por la muerte de cerdos, sino también por los retrasos en ganancia de peso, alimentos, vacunaciones, tratamientos, y asesoramiento veterinario.

BIBLIOGRAFÍA BÁSICA

Faurez, F., Dory, D., Grasland, B., Jestin, A. 2009 Replication of porcine circoviruses. *Virology* 2009; 6:60. May 18.

Noriega, J., Reyes, P., Bucarey, S. (2007) Circovirus porcino: un virus pequeño que genera un gran problema. *Avances en Ciencias Veterinarias* 22, pp. 62-71.

Sarradell, J., Perez, A.M., Comba, E., Pereira, N., Anthony, I., Andrada, M., Segales, J.

(2004) Pathological findings in pigs affected by postweaning multisystemic wasting syndrome in Argentina. *Rev. Arg. Microbiol.* Jul-Sep; 36 (3): 118-24.

Segalés, J. (2011) *Circovirus porcina*.