

Estudio de caso sospechoso de circovirus porcino en granja con vacunación

Vergara M¹, Favaro P¹, Campá M², Velázquez R¹, Silvetti J¹, Sanchez A³, Occhi H¹.

1. Cátedra de Microbiología, FCV-UNL. paulafavaro10@gmail.com
2. Cátedra de Producción Porcina, FCV-UNL
3. Cátedra de Histopatología, FCV-UNL

Este resumen se enmarca en un Proyecto CAI+D denominado “Evaluación de estrategias sanitarias contra Circovirus porcino en granjas de la región”, cuyo objetivo es detectar fallas vacunales frente a la inmunización contra el Circovirus porcino tipo II (PCV2). Es conocido que las enfermedades asociadas al PCV2 se han convertido en uno de los problemas económicamente más importantes en las granjas porcinas de todo el mundo. El desarrollo y uso de la vacunación ha sido eficaz previniendo y disminuyendo su dispersión. Entre los cuadros producidos por este virus se incluyen el síndrome multisistémico de desmedro post-destete, síndrome de dermatitis y nefropatía porcina y es uno de los agentes causales del complejo respiratorio porcino³. Además, puede producir infecciones subclínicas y fallas reproductivas, entre otros. Para realizar el diagnóstico de la circovirus porcina se requiere la presencia de lesiones histopatológicas típicas, así como la detección de antígeno o ácido nucleico del PCV2 en tejidos, asociados con la signología.¹ Los animales afectados manifiestan una gran variedad de cuadros, aunque las principales lesiones se observan en órganos linfoides e incluyen depleción linfocitaria, infiltración histiocítica y presencia de células gigantes multinucleadas.²

El objetivo del presente trabajo es dilucidar si el PCV2 es el agente causal de un incremento en la mortalidad en cerdos en una granja de producción porcina de la región.

En el establecimiento estudiado, los índices de mortandad en la etapa de terminación y pos-destete correspondían a 2,4% y 1,8% respectivamente. En los últimos 4 meses, se detectó un incremento brusco en los índices, aumentando a un 5% y 2,8% respectivamente. Los cuadros clínicos observados consisten en síndromes nerviosos, respiratorios, hipertermia y muerte súbita.

Anteriormente, en la granja, se han realizado diagnósticos de *Mycoplasma*, *Pasteurella*, *Actinobacillus pleuropneumoniae*, Influenza, *Salmonella Cholerae*, *Bordetella bronchiseptica*. Además, estudios histopatológicos previos, informan lesiones compatibles con las causadas por el PCV-2. En el establecimiento se vacuna contra PCV2, *Mycoplasma* y *Actinobacillus pleuropneumoniae*. El presuntivo del veterinario clínico es falla vacunal a PCV2 por interferencia calostrala.

Se realizó la necropsia de 11 animales del establecimiento, durante la cual se observaron lesiones macroscópicas y se tomaron muestras de órganos. En las necropsias se encontraron lesiones varias: úlcera estomacal sangrante (1 de 11 cerdos), neumonía intersticial (8 de 11), hígado con hepatomegalia, bordes redondeados y color heterogéneo (9 de 11), riñones con decoloración de corteza (2 de 11), hemorragias periféricas en ganglios (2 de 11) y esplenitis (8 de 11). En todos los animales a los que se les realizó la necropsia se observó aumento generalizado del tamaño de los ganglios linfáticos.

Se remitieron al laboratorio de Virología de la Facultad de Ciencias Veterinarias (FCV-UNL) muestras refrigeradas de hígado, riñón, ganglios, corazón, bazo y pulmón para testeo por PCR y en formol al 10% al Laboratorio de Histopatología del Hospital de Salud Animal (HSA).

En el laboratorio de Histopatología, se observaron las lesiones microscópicas mediante tinción de cortes histológicos con hematoxilina-eosina.

En el laboratorio de Virología, sobre ganglios linfáticos refrigerados de cuatro animales, se procedió a realizar la técnica de Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) para amplificar el sector ORF1 del PCV2. Para la extracción de ADN se usó el kit comercial Wizard Genomic DNA Purification Kit (Promega) sobre tejido animal fresco o descongelado según protocolo del fabricante. La amplificación del material genético obtenido se realizó utilizando 1 ul de primers específicos (CVF: CGA GAA

VII JORNADA DE DIFUSIÓN DE LA INVESTIGACIÓN Y EXTENSIÓN

Noviembre 2019. Esperanza. Santa Fe. Argentina.

Área temática: **SALUD ANIMAL**

AGC GAA AGG AAC AGA, y CVR: GGT AAC CAT CCC ACC ACT T), 5 ul de Buffer Taq, 0,5 ul de dNTP mix (Promega), 0,25 ul de enzima GoTaq Polimerasa (Promega) y 12.25 ul de agua libre de nucleasas. En el termociclador (Techne TC-3000) se programó un ciclado con una desnaturalización inicial a 94°C por 3 minutos; 35 ciclos de desnaturalización a 94°C 30 segundos, annealing a 55°C 30 segundos y extensión a 72°C 30 segundos. La extensión final se realizó a 72°C por 7 minutos. Los resultados se obtuvieron mediante electroforesis, usando un gel de agarosa al 1,5% con tinción de SYBR Safe DNA gel stain (Invitrogen), esperando detectar un producto de 371 pares de bases (pb) correspondiente a un fragmento del sector ORF1 del genoma del PCV2. La lectura se realizó en transiluminador (Safe Imager 2.0, Invitrogen). Para comparar el tamaño de los fragmentos amplificados se utilizó un marcador de peso molecular (CierMarker, Biodynamics) desde 100 a 1000 pb con incrementos de 100 pb.

Como control positivo se usó un sobrenadante de cultivo celular de un aislamiento de PCV2 obtenido previamente que fue confirmado por Inmunofluorescencia Directa. Como control negativo se usó agua libre de ARNasas y ADNasas.

A la observación microscópica de pulmón se encontró neumonía bronco intersticial con exudado neutrofílico y fibrinoso, congestión severa en vasos sanguíneos con neutrófilos y bacterias. Los ganglios linfáticos presentaron linfadenitis supurativa severa, abundante exudado neutrofílico y edema en los senos, hiperemia difusa con vasos sanguíneos repletos de neutrófilos y bacterias y depleción de tejido linfoide folicular. En hígado se encontró marcada congestión central, portal y sinusoidal, pérdida del ordenamiento trabecular con tumefacción de hepatocitos, focos de esteatosis, congestión y dilatación de sinusoides. El corazón no presentó lesiones. Se observaron leves cambios degenerativos del epitelio de túbulos renales, congestión en glomérulos e intersticios renales. Por último, en bazo se encontró marcada depleción linfoidea de la pulpa blanca, con linfocitólisis de células y congestión de la pulpa roja. Estos resultados no se condicen con las lesiones descriptas típicamente en la Circovirus Porcina.

Mediante electroforesis en gel de agarosa, no se observó ninguna banda de amplificación en las muestras, lo que indica que no se detectó ácido nucleico perteneciente al PCV-2 en los tejidos analizados.

Debido a los resultados negativos en la prueba de PCR y a la incompatibilidad de las lesiones histopatológicas encontradas, se descarta el presuntivo de falla vacunal a PCV2 por interferencia calostrual. Se realizarán más estudios para encontrar la causa de los cuadros observados.

Bibliografía:

- 1- Opriessnig, T.; Langohr, I. (2016). Current State of Knowledge on Porcine Circovirus Type 2-Associated Lesions. *Veterinary Pathology* 50(1) 23-38
- 2- Segalés, J. (2012). Porcine circovirus type 2 (PCV2) infections: Clinical signs, pathology and laboratory diagnosis. *Virus Research* 164 (2012) 10– 19
- 3- Chae, C. (2005). A review of porcine circovirus 2-associated syndromes and diseases. *The Veterinary Journal* 169 (2005) 326-336