

AREA TEMATICA: **SALUD ANIMAL**

Circovirus Porcina: Detección y Aislamiento en Cultivos Celulares

Paz, M. E; Gollan, A; Bruno, B; Di Paolo, B; Passegi, C; Tonini, M. F; Garcia Langhi, P; Favaro, P, Lotto, B; Occhi, H.

mepaz@ful.unl.edu.ar

Catedra de Virología, FCV-UNL.

Curso de Acción para la Investigación y el Desarrollo (CAI+D): Agentes víricos involucrados en procesos respiratorios que afectan la salud porcina.

Los circovirus porcinos tipo 1 y tipo 2 (PCV-1 y PCV-2) son virus muy pequeños (17nm), no envueltos, de simetría icosaédrica, con un DNA circular de hebra simple de aproximadamente 1700 nucleótidos de longitud. Aunque el PCV-1 es persistente en la población de cerdos, la presencia de PCV-1 no ha sido asociada con ninguna signología clínica o patológica reconocida. En contraste, PCV-2 ha sido implicado como el agente etiológico principal del Síndrome Multisistémico de Desmedro Posdestete (PMWS), caracterizado principalmente por pérdida de peso, deterioro general de la condición corporal y efectos inmunodepresores severos, lo que conlleva a la muerte prematura de los lechones¹. Los criterios de diagnóstico de la circovirus porcina (CP) no han cambiado en los últimos 10 años. Se considera que un cerdo padece específicamente de CP cuando presenta síntomas clínicos caracterizados por retraso en el crecimiento y/o alteraciones respiratorias/digestivas, lesiones histopatológicas características en órganos linfoides (moderada a marcada depleción linfocitaria con infiltración histiocitaria) y presencia de PCV2 en cantidad moderada en esas lesiones linfoides⁴.

En la Argentina, el PMWS fue diagnosticado en 2002. Hoy se considera al PCV-2 como un patógeno emergente en nuestro medio, aunque no existe información suficiente referida a la extensión y a las características de la presentación del síndrome². Si bien se desconoce la distribución real del virus en nuestro país se observó desde el año 2002 un número creciente de granjas con PMWS y distribuidas en las principales provincias productoras³.

Como objetivo proponemos demostrar, por medio de herramientas diagnósticas y aislamiento viral, la presencia de pcv2 dentro de establecimientos del área de estudio. Destacar la importancia sanitaria y económica de la circovirus porcina.

Se trabajó con muestras de pulmones y ganglios linfáticos de cerdo, entre 7 a 16 semanas de edad que presentaban pérdida de peso, retardo en el crecimiento, depresión y síntomas respiratorios. Estas muestras llegaron de distintos establecimientos de la provincia de Entre Ríos.

De las muestras obtenidas, en el laboratorio de Virología FCV-UNL, se realizó la técnica de Inmunofluorescencia Directa (IFD) a partir de improntas de órganos (pulmón y ganglio linfático) para lo cual cada órgano fue procesado de forma individual. Se llevó a cabo la tinción de inmunofluorescencia, con antisuero policlonal anti-PCV2 conjugado con isotiocianato de fluoresceína de origen comercial VMRD (Nº cat: PAB-PCV2) observándose en microscopio de fluorescencia. A estas mismas muestras se le realizaron técnicas clásicas de Histopatología en el Laboratorio de Cito e Histopatología en la misma facultad.

Las muestras que resultaron positivas a la técnica de Inmunofluorescencia y que a su vez presentaban lesiones histopatológicas sugerentes de acción viral, fueron procesadas para realizar técnica molecular PCR.

Por su parte en el área de Cultivos Celulares se trabajó con la línea establecida PK15 (cedida por CICV-Laboratorio de Aves y Porcinos, del INTA- Castelar) para intentar aislamiento a partir de muestras de pulmón/ganglio linfático de animales con circovirus, confirmados anteriormente mediante IFD, Histopatología y PCR. Se realizaron dos pasajes consecutivos por muestra para amplificar el número de partículas virales. Por un lado, los sobrenadantes conteniendo partículas

AREA TEMATICA: SALUD ANIMAL

virales fueron congelados en freezer de -20°C para posteriores ensayos. Debido a que circovirus no genera efectos citopáticos en cultivos celulares, la evidencia de la amplificación del título viral se hace mediante inmunofluorescencia de células infectadas. Estas se realizaron tanto en un primer como en un segundo pasaje.

Los resultados histopatológicos sugieren lesiones compatibles a Circovirus, confirmando estos datos mediante la lectura de IFD, exhibiendo un patrón de tinción característico, particulado citoplasmático y fluorescencia nuclear densa.

Mediante la realización de PCR se obtuvieron resultados positivos en un total de 11 muestras (n= 37).

Los aislamientos virales se confirmaron mediante la tinción y observación de improntas de células infectadas, notando un gran aumento de la densidad de fluorescencia entre un primer y segundo pasaje, siendo esto debido al aumento de partículas virales provenientes de una muestra original.

De 11 muestras que son positivas PCR, y por lo tanto también a IFD e Histopatología, en el laboratorio de cultivos celulares se consiguió el aislamiento de 6 muestras (6/11).

Los resultados hasta aquí obtenidos, demuestran la presencia y circulación del agente dentro de nuestra área de estudio, aún cuando la bibliografía menciona que hay poca evidencia sobre la presencia de PCV2. También podemos decir que hay bastante correlación entre los métodos diagnósticos hasta aquí utilizados, por lo que la detección de la circovirosis porcina no es tan compleja como se cree.

La producción porcina está atravesando una etapa de expansión económica, y es deber de los médicos veterinarios, instituciones académicas y carreras afines, contribuir a dicho desarrollo. Mediante la implementación de técnicas diagnósticas y un trabajo interdisciplinario se pueden lograr los objetivos productivos y sanitarios que hoy en día deben enfrentar los establecimientos de producción.

Bibliografía

1. Noriega, J., Reyes, P.; Bucarey, S. (2007), Circovirus porcino: un virus pequeño que genera un gran problema. Avances en ciencias veterinarias- Vol 22, pp. 62-71.
2. Pereyra, N., Sarradel, J., Cane, F., Francois, S., Pidone, C., Comba, E., Rodríguez, F., Gugliemone, A. (2006) Detección de Mycoplasma suis en casos clínicos de síndrome del desmedro multisistémico postdestete en porcinos, Rev. Argentina de Microbiología 38, pp. 130-133.
3. Sarradel, J., Pérez, A., Comba, N., Pereyra, N. Anthony, L., Andrada, M., Segalés, J. (2004) Hallazgos patológicos en cerdos afectados con el síndrome del desmedro multisistémico postdestete de la República Argentina. Rev. Argentina de Microbiología 36, pp 118-124
4. Segalés, J. (2007) Circovirosis porcina www.3tres3.com/circovirosis_porcina/diagnostico-de-la-circovirosis-criterios-individuales-y-de-granja_2049/