

Estudio en matadero sobre la nefritis intersticial multifocal en cerdos desmedrados

J. Martínez ^a, J. Segalés ^b, L. Selva ^a, D. Viana ^a, G. Adúriz ^c,
R. Atxaerandio ^c, P. Jaro ^d, J. Ortega ^a, B. Peris ^a, J.M. Corpa ^a.

^a Facultad de Ciencias Experimentales y de la Salud,
Universidad CEU-Cardenal Herrera, Moncada, Valencia.

^b Centre de Recerca en Sanitat Animal (CRESA), Bellaterra, Barcelona.

^c Instituto Vasco de Investigación y Desarrollo Agrario (Neiker), Derio, Vizcaya.

^d Inspector Veterinario Oficial, Matadero "La Hoya de Buñol", Buñol, Valencia.

La nefritis intersticial multifocal (NIMF), comúnmente denominada riñón de "manchas blancas", es una de las causas más comunes de decomiso del riñón en cerdos de matadero (Drole et al., 2002). Numerosos estudios han intentado aclarar los agentes infecciosos involucrados en la nefritis intersticial de cerdos aparentemente sanos en el matadero, siendo los resultados muy variables (Hunter et al., 1987; Jones et al., 1987; Baker et al., 1989; Chappel et al., 1992; Drolet et al., 2002; Boqvist et al., 2003).

Durante muchos años, una de las bacterias tradicionalmente relacionadas con este tipo de lesiones ha sido *Leptospira interrogans* (Michna y Campbell, 1969; Jones et al., 1987; Baker et al., 1989), aunque en estudios recientes esta relación no ha sido demostrada (Drolet et al. 2002; Boqvist et al., 2003). La leptospirosis es una infección zoonótica causada por varios serovares de *L. interrogans spp.*, los cuales afectan a un gran número de especies salvajes y domésticas. Se han descrito numerosos serovares capaces de infectar cerdos, siendo los más comunes, los serovares Pomona y Bratislava (Ellis y Thiermann, 1986; Perea et al., 1994; Boqvist et al., 2002).

Además de *Leptospira spp.*, se han propuesto otros agentes etiológicos asociados a la nefri-

tis intersticial, como el virus del Síndrome Reproductivo y Respiratorio Porcino (PRRSV), el Circovirus Porcino (PCV2), el Parvovirus Porcino (PPV) y el Adenovirus Porcino (Nietfeld y Leslie-Steen, 1993; Drolet y Dee, 1999; Drolet et al., 2002).

Por otra parte, hasta la fecha no se han publicado estudios en matadero sobre riñones "de manchas blancas" en cerdos desmedrados. Estos cerdos muestran un menor índice de crecimiento, permaneciendo en el cebo durante más tiempo que sus compañeros de lote. En el matadero, los cerdos desmedrados muestran enfermedades crónicas y lesiones que frecuentemente provocan un decomiso total. De hecho, se aprecia un mayor índice de lesiones en riñón en cerdos desmedrados en relación a los cerdos aparentemente sanos (P. Jaro, observación per-

RESUMEN

La nefritis intersticial multifocal porcina, coloquialmente conocida como "riñones de manchas blancas", se ha asociado a múltiples agentes infecciosos. El objetivo del presente estudio fue investigar diversos agentes etiológicos relacionados con esta patología en cerdos desmedrados en matadero. Veintinueve riñones lesionados, clasificados macroscópicamente en tres grados de lesión, y quince riñones control (sin lesiones macroscópicas), fueron recogidos del matadero. Se llevaron a cabo múltiples análisis laboratoriales con la finalidad de detectar posibles asociaciones entre la mencionada condición patológica y varios agentes etiológicos como *Leptospira spp.*, Circovirus Porcino tipo 2 (PCV2), Parvovirus Porcino (PPV), virus del Síndrome Reproductivo y Respiratorio Porcino (PRRSV), así como diversas bacterias. Histológicamente, tanto en los riñones macroscópicamente lesionados como en los controles se observó nefritis intersticial con un patrón inflamatorio linfocelular (nefritis folicular), con una frecuencia más alta en los primeros. No se identificaron leptospirosis, aunque sí anticuerpos frente a los serovares Pomona y Bratislava. También se aislaron bacterias piógenas, tanto en riñones con lesión como en los controles. El ácido nucleico de PCV2 fue detectado solamente en un riñón con lesión. No se detectaron antígenos del PRRSV en ninguna de las muestras. Algunos cerdos resultaron serológicamente positivos al PPV. Por lo tanto, ninguno de los agentes estudiados pudo ser asociado directamente como la causa de las lesiones renales en los cerdos desmedrados estudiados. El hecho de que estas lesiones crónicas estuvieran relacionadas con infecciones anteriores de alguno de estos microorganismos, o incluso, con otros agentes infecciosos no estudiados durante el período de cebo, no puede descartarse.

sonal), aunque esta información no ha sido publicada.

Por lo tanto, el propósito de este trabajo fue caracterizar las lesiones asociadas a riñones de "manchas blancas" en matadero en cerdos desmedrados, así como investigar el posible papel de varios agentes infecciosos (*Leptospira spp.* y otras bacterias, así como PRRSV, PCV2 y PPV) y su relación con las lesiones renales.

Material y métodos

Datos de matadero

Los cerdos estudiados pertenecían a 11 granjas diferentes, localizadas en el este de España. Los animales se sacrificaron en un matadero local de Valencia. Tenían una edad comprendida entre 6 y 8 meses, con un peso medio de la canal de 47 kg.

Recogida de muestras

En este estudio se seleccionaron 44 riñones procedentes de 44 cerdos que sufrían emaciación y que fueron sacrificados en matadero. Las causas específicas de esta delgadez no fueron recogidas; la selección de los animales se basó únicamente en signos clínicos. Se seleccionaron 29 riñones con manchas blancas multifocales en la superficie cortical (muestras problema) y 15 riñones sin evidencia de lesiones macroscópicas (muestras control). Las muestras se recogieron

en un periodo de tres semanas (una vez por semana). Cada día de muestreo se seleccionaron al azar 9 ó 10 riñones con lesión, y 5 riñones control respecto al número total de animales desmedrados sacrificados.

Los riñones fueron clasificados patológicamente desde 0 a 3 siguiendo el criterio macroscópico propuesto por Baker *et al.* (1989). El criterio era el siguiente: grado 0 (sin lesiones macroscópicas), grado 1 (menos de 10 focos blanquecinos con un diámetro de 2 a 5 mm), grado 2 (más de 10 focos blanquecinos con la presencia de una mancha blanca, o más, de menos de 1 cm de diámetro), grado 3 (tejido cortical del riñón completamente cubierto de focos blanquecinos o manchas). Por lo tanto el grado 0 se correspondía al grupo control mientras que los grados 1-3 se correspondían con riñones lesionados. Además, se tomaron muestras de tonsilas de los cerdos estudiados.

Porciones de riñón de cada cerdo estudiado fueron introducidas en bolsas de plástico individuales y estériles, conservándolas en refrigeración para posteriores análisis microbiológicos. Otras porciones de tejido renal se introdujeron en tubos con medio líquido de transporte (TM) y fueron enviadas al laboratorio sin refrigeración. Secciones de riñón y tonsila fueron fijadas mediante inmersión en formol tamponado al 10%. En la toma de muestras se empleó, en cada ocasión, material estéril.



Figura 1. Riñón porcino microscópicamente clasificado como grado 2. La capa cortical muestra más de 10 focos blanquecinos entre 2-5 mm de diámetro.

Un coágulo de sangre procedente de las cavidades cardíacas de cada cerdo estudiado fue inmediatamente (10 minutos después del sacrificio) recogido para la obtención de suero.

Estudios histopatológicos, inmunohistoquímicos y de hibridación in situ

Las muestras de riñón y tonsila se mantuvieron en formol tamponado entre 24 y 48 horas, después se deshidrataron y se embebieron en parafina. Posteriormente, se hicieron cortes de 4 micrómetros que se tiñeron mediante los métodos de hematoxilina-eosina (HE) y Warthin-Starry (tinción de plata).

Para identificar *L. interrogans* se emplearon dos protocolos de inmunohistoquímica (IHQ) en riñón. En el primero, descrito por Nally *et al.* (2004), se utilizó un anticuerpo primario de conejo específico para las membranas externas de *L. interrogans* serovar Copenhageni SPLFL aislado RJ15958, a una dilución de 1:500. El segundo protocolo fue descrito por Ramos *et al.* (1991), empleándose para identificar los siguientes serovares: Icterohaemorrhagiae, Pomona, Canicola, Bratislava, Hardjo y Grippotyphosa. El anticuerpo primario procedía del National Leptospirosis Center (Nacional Animal Disease

Center, Ames, IA, USA), empleándose a una dilución de 1:800.

Para detectar el antígeno de PRRSV se realizó una IHQ usando el anticuerpo primario SDOW-17-A (Rural Technologies Inc., SD, USA) y siguiendo el protocolo descrito por Segalés *et al.* (1999).

Para identificar el ácido nucleico de PCV2 se empleó la hibridación *in situ* (ISH) siguiendo el protocolo descrito por Rosell *et al.* (1999).

Bacteriología

Las muestras para el análisis bacteriológico se remitieron rápidamente al laboratorio. El protocolo que se empleó para aislar *Leptospira spp.* fue el descrito por Ellis (1986), con algunas modificaciones. Para los análisis bacteriológicos rutinarios, se inocularon placas de agar-sangre y agar McConkey a 37 °C durante 24-48 h. Las colonias se identificaron mediante el empleo de tests bioquímicos convencionales y métodos miniaturizados (API: bio-Mérieux).

Inmunofluorescencia directa (DIF) para la detección de Leptospira spp.

Se realizaron frotis de riñón en portas. Éstos se secaron al aire, se fijaron mediante acetona fría

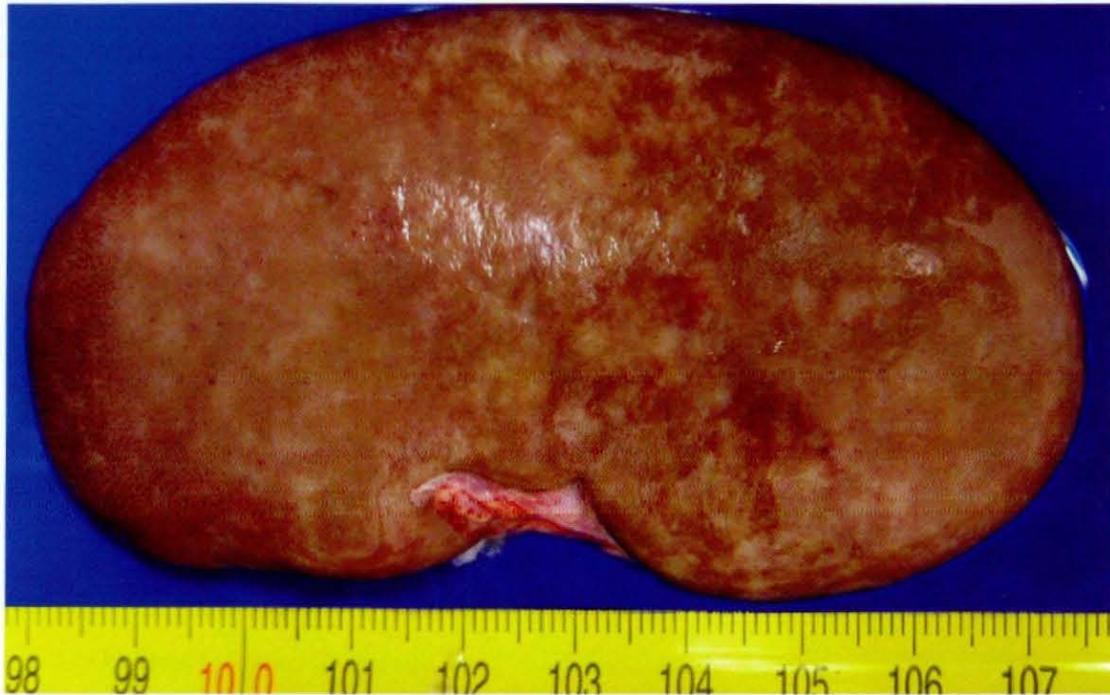


Figura 2. Riñón porcino con una lesión grado 3. La superficie del órgano está completamente cubierta por áreas blanquecinas.

y se tiñeron con una dilución 1:20 de un anticuerpo policlonal de conejo conjugado con fluorescencia (NVSL, Ames, IA, USA). Se incluyeron cada vez controles negativos y positivos.

Serología frente a *Leptospira* spp. y PPV

Se empleó la prueba de la micro-aglutinación (MAT), que es la prueba de referencia para el diagnóstico serológico de Leptospirosis en animales (Ellis y Bolin, 1996). Las muestras del suero fueron probadas para los anticuerpos frente a los serovares de Bratislava y de Pomona, los cuáles son representativos de los serogrupos Australis y Pomona, respectivamente. La MAT fue realizada según el método descrito inicialmente por Wolff (1954), adaptado más a fondo por Faine (1987). Las muestras que demostraron un cierto grado de aglutinación o de lisis fueron tituladas de 1:10 a 1:30.000 (Ellis y Michna, 1976). El título fue definido como la dilución más alta del suero en la cuál por lo menos el 50% de leptospiras aglutinaban. Aunque el título estándar límite es 1:100, los títulos de 1:30 también eran considerados positivos, puesto que los animales infectados podían haber tenido títulos MAT por debajo del título significativo mínimo extensamente aceptado de 1:100 (Ellis, 1999).

Los anticuerpos frente a PPV fueron detectados usando una prueba comercial de ELISA indirecto (Ingezim PPV, Ingenasa, Madrid, España). De los 44 animales, solamente 38 sueros fueron analizados, puesto que de los sueros restantes no hubo suficiente muestra después de la serología a *Leptospira* spp.

Análisis estadísticos

Una prueba chi-cuadrado fue utilizada para correlacionar las lesiones macroscópicas con lesiones microscópicas, resultados bacteriológicos, resultados de DIF e IHQ/ISH, y anticuerpos a *Leptospira* spp. y a PPV. La relación entre los días del muestreo y los resultados de los análisis realizados también fue analizada por la misma prueba.

Resultados

Lesiones macroscópicas y microscópicas

Los resultados patológicos se resumen en el Cuadro I. De los 29 riñones con puntos blanquecinos visibles macroscópicamente, 12 (41,4%) fueron clasificados como grado 1; 14 (48,3%) fueron grado 2 (Figura 1); y 3 (10,3%)

Cuadro I. Relación entre las lesiones macroscópicas y microscópicas.

	Nº riñones	Lesiones microscópicas	FN ^a	ILF ^b	Granulomas	PMN ^c	Fibrosis
Control	15	14	4	9	0	1	1
Grado 1	12	11	6	5	1	1	1
Grado 2	14	13	8	4	1	2	3
Grado 3	3	3	2	1	1	1	1

^a FN: Nefritis folicular; ^b ILF: Focos linfoplasmocíticos menores que un glomérulo; ^c PMN: Presencia de neutrófilos.

fueron clasificados como grado 3 (**Figura 2**). Microscópicamente, 27 de los 29 riñones lesionados mostraron nefritis intersticial caracterizada por varios focos inflamatorios linfoplasmocíticos peritubulares y perivasculares, de mayor tamaño que los glomérulos (patrón folicular, **Figura 3**); esta lesión fue definida como nefritis folicular multifocal (FN), según Drolet *et al.* (2002). Generalmente, estas lesiones se acompañaron de focos inflamatorios linfoplasmocitarios intersticiales, de menor tamaño que los glomérulos (ILF) (**Figura 4**). También se observaron fibrosis intersticial, nefritis intersticial multifocal granulomatosa (aunque no se detectaron hongos ni micobacterias mediante tinciones especiales, tales como Grocott y Ziehl-Nielsen, respectivamente), presencia de neutrófilos necróticos dentro del lumen de los conductos colectores medulares cercanos a la pelvis renal, y esclerosis glomerular. Además, siempre apareció ILF en riñones control con FN. Sin embargo, otros riñones control presentaron solamente ILF. De éstos últimos, uno presentaba neutrófilos necróticos dentro de los conductos colectores medulares cercanos a la pelvis, otro mostraba fibrosis intersticial, mientras que en el tercero se observó una arteritis linfoplasmocítica crónica que consistía en un infiltrado de células mononucleares y fibrosis mural. La FN y el ILF se localizaban en la corteza y en la médula, y en el tejido conectivo peripelvico. No se observaron diferencias entre los riñones lesionados y los riñones control. No se observaron bacterias del tipo espiroqueta, tales como *Leptospira spp.*, mediante tinciones de Warthin-Starry.

Por otra parte, no se observaron lesiones microscópicas en 3 riñones (2 riñones lesionados -uno grado 2 y uno grado 1- y uno control). Tampoco se observaron lesiones microscópicas en tonsilas.

Inmunohistoquímica frente a Leptospira spp. y PRRSV

No se detectó ningún antígeno leptospiral mediante los métodos IHQ probados. Además, la IHQ para detectar PRRSV mostró resultados negativos en todas las muestras.

Hibridación in situ para detectar ácido nucleico de PCV2

Ocho cerdos tenían bajas cantidades de ácido nucleico de PCV2. En siete de ellos, el genoma viral sólo fue detectado en el citoplasma de macrófagos presentes en tonsilas, principalmente en áreas foliculares. En el cerdo restante, el ácido nucleico de PCV2 no sólo se localizó en el citoplasma de macrófagos de áreas foliculares de la tonsila, sino también en el citoplasma de los macrófagos de infiltrados inflamatorios de los riñones y en un número bajo de las células epiteliales renales. Las tonsilas positivas pertenecieron a 5 riñones lesionados, y a 2 controles. El único riñón positivo correspondió a una lesión macroscópica clasificada de grado 3.

Resultados bacteriológicos

Todos los cultivos específicos para aislar *Leptospira spp.* fueron negativos en ambos grupos de riñones. De los 44 riñones estudiados, 13 mostraban otros crecimientos bacteriológicos (11 casos de riñones lesionados, y 2 controles). Los resultados bacteriológicos generales se resumen en el **Cuadro II**.

Inmunofluorescencia directa

De todas las muestras analizadas, se detectó antígeno de *Leptospira spp.* en 2 riñones lesionados.

Serología frente a Leptospira spp. y PPV

Veintiocho cerdos resultaron positivos a MAT para detectar el serovar Bratislava. Veinte pertenecían a animales registrados como animales le-

Cuadro II. Resultados de los cultivos bacteriológicos rutinarios y específicos.

	Casos	Control	Total
<i>Corynebacterium glucuronolyticum</i>	1	0	1
<i>Streptococcus salivarius</i>	2	0	2
<i>Staphylococcus aureus</i>	1	0	1
<i>Streptococcus dysgalactiae equisimilis</i>	1	2	3
<i>Streptococcus suis</i>	1	0	1
<i>Escherichia coli</i>	5	0	5

Cuadro III. Resultados de la ISH para PCV2, bacteriología, DIF, MAT y ELISA y su relación con las lesiones macroscópicas (porcentajes expresados respecto al número de riñones por cada categoría). Los positivos a ELISA de PPV no están expresados en porcentajes porque no pudieron analizarse todos los sueros.

Lesiones macroscópicas	Nº. riñones	ISH PCV2 ^a	Bacteriología	DIF ^b	MAT ^c Bratislava	ELISA PPV ^d
Control	15	2 (13,3%)	2 (13,3 %)	0 (0%)	8 (66,7 %)	6
Grado 1	12	2 (16,6 %)	4 (33,3 %)	1 (8,3%)	8 (66,6 %)	7
Grado 2	14	2 (14,3 %)	6 (42,9 %)	1 (7,1%)	10 (71,4 %)	6
Grado 3	3	2 (66,6 %)	1 (33,3 %)	0 (0%)	2 (66,6 %)	1

^a ISH PCV2: Hibridación in situ para el Circovirus Porcino tipo 2; ^b DIF: Inmunofluorescencia directa, ^c MAT: Test de la micro-aglutinación, ^d PPV: Parvovirus Porcino.

sionados, y 8 eran cerdos control. En los cerdos afectados, los títulos se distribuyeron como sigue: 1:30 (n = 9), 1:100 (n = 9), 1:300 (n = 1) y 1:1.000 (n = 1). Los resultados entre cerdos control fueron 1:30 (n = 3), 1:100 (n = 4) y 1:300 (n = 1). Sin embargo, ninguno de los cerdos estudiados tenía anticuerpos séricos frente al serovar Pomona.

Veinte cerdos resultaron positivos a PPV mediante ELISA (14 riñones con lesión y 6 controles). Para los riñones con lesión, los títulos de anticuerpos fueron 1:200 (n = 2), 1:800 (n = 1), 1:1.600 (n = 3) y >1: 3.200 (n = 8), mientras que para los control fue de 1:200 (n = 1), 1:400 (n = 1), 1:800 (n = 1), 1:1.600 (n = 1) y >1: 3.200 (n = 2).

Se muestra un resumen general de los resultados de ISH, cultivo bacteriológico, inmunofluorescencia directa y los resultados de la serología en el **Cuadro III**.

Resultados estadísticos

Entre la observación de lesiones macroscópicas y la presencia de lesiones microscópicas, FN, se observaron asociaciones significativas (p <

0,005). Por otra parte, también se observó una diferencia significativa (p < 0,005) entre el día del muestreo y la seropositividad a PPV. No se observó ninguna diferencia significativa entre los riñones con lesión y los controles para el resto de parámetros estudiados.

Discusión

Se ha descrito que la NIMF puede ser potencialmente inducida por numerosos patógenos bacterianos y virales en cerdos (Drolet y Dee, 1999). Por lo tanto, estas lesiones no son específicas, y rara vez se les puede asociar a un determinado agente etiológico (Maxie, 1993). Aunque estas citas anteriormente mencionadas se correspondían a cerdos sanos de matadero, nuestros resultados confirman también este hecho en cerdos desmedrados. Por otra parte, la mayor parte de los casos de NIMF presentados en este estudio se correspondieron con una nefritis folicular; se ha propuesto una relación entre la nefritis folicular y la respuesta inmunológica no específica frente un estímulo antigénico local y prolongado (Drolet *et*

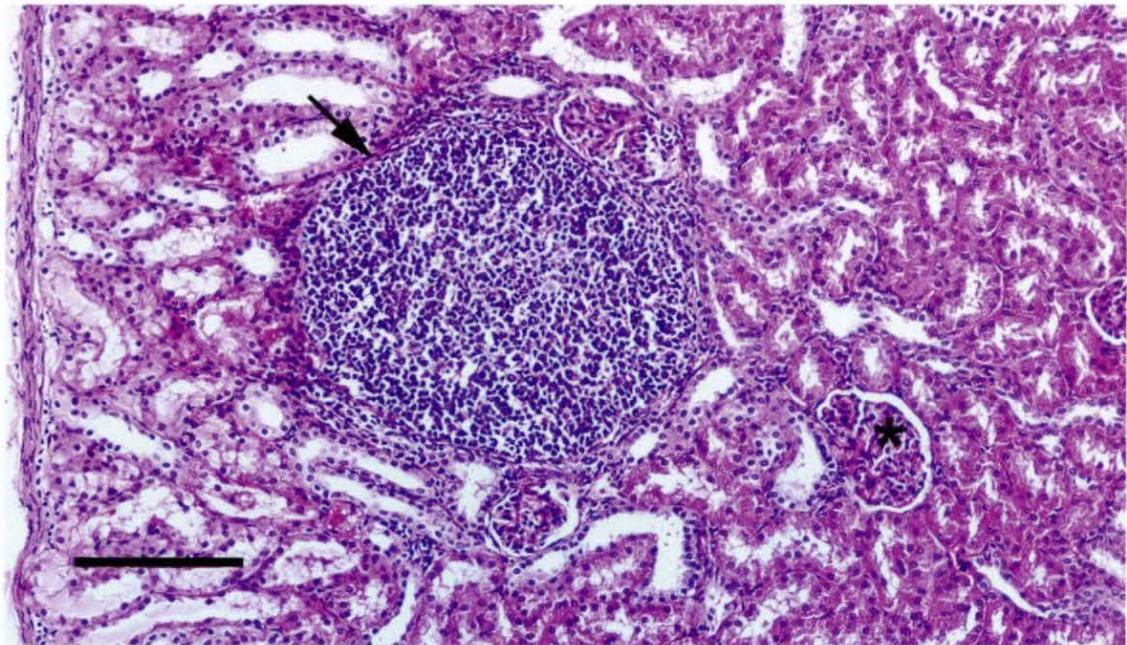


Figura 3. Nefritis intersticial con un patrón foliolar. Presencia de un foco linfoplasmocitario (flecha) de tamaño mayor a un glomérulo (asterisco). Tinción: H-E. Barra: 100 μ m.

al., 2002); por lo tanto era predecible no encontrar una clara asociación entre estos cerdos crónicamente afectados y agentes infecciosos específicos. Aunque los hallazgos patológicos de este estudio coinciden con otros estudios (Michna *et al.*, 1969; Hunter *et al.*, 1987; Drolet *et al.*, 2002), los resultados con respecto al aislamiento de *Leptospira spp.* son relativamente diferentes a algunos de ellos (Michna *et al.*, 1969; Hunter *et al.*, 1987). Sin embargo, son bastante similares a los más recientes (Drolet *et al.*, 2002; Boqvist *et al.*, 2003). Dos cerdos de nuestro estudio dieron un resultado positivo a la inmunofluorescencia directa, pero dieron un resultado negativo al cultivo específico bacteriológico, tinción de Warthin-Starry y a ambos métodos de IHQ. Por otra parte, los títulos de MAT para los animales positivos a la DIF no fueron especialmente altos (1:30). Por lo tanto, la positividad de estos dos cerdos a *Leptospira spp.* podría ser interpretada como verdadera si tenemos en cuenta la distribución al azar de los túbulos infectados, pudiendo pasar desapercibidos a otros métodos; o podrían ser, más probablemente, falsos positivos debido a la baja especificidad de la técnica de DIF (Ellis *et al.*, 1983).

Se ha descrito a *L. interrogans* serovar Pomona como el serovar más común aislado de cerdos de todo el mundo (Ellis, 1999). Algunos trabajos han descrito títulos positivos contra este serovar y

el Bratislava en un lote de cerdos en España (Perea *et al.*, 1994), y en matadero en otros países (Baker *et al.*, 1989; Boqvist *et al.*, 2003). Por el contrario, nuestros resultados no demostraron ninguna positividad frente al serovar Pomona, datos similares a los recogidos por Muirhead y Alexander (1997). Estos autores describieron que Pomona parecía haber desaparecido de Europa occidental, pero que muchas explotaciones estaban expuestas en algún momento al serovar Bratislava.

El hecho de que la mayoría de las técnicas empleadas para detectar *Leptospira spp.* diera resultados negativos, mientras que la serología mostrara dos resultados positivos, pudo deberse a las diferencias en la virulencia de las cepas que permanecerían en los túmulos proximales (Cheville *et al.*, 1980), a la dificultad de aislamiento del serovar Bratislava en cerdos (Boqvist *et al.*, 2003), o a un contacto temprano de las bacterias con los cerdos en la primera fase de cebo, y a una eliminación rápida de las leptospiros dejando anticuerpos residuales (Baker *et al.*, 1989). Nuestros resultados refuerzan esta última hipótesis debido a los altos títulos observados por la MAT, y los resultados negativos obtenidos mediante el cultivo y la IHQ. De esta manera, Hunter *et al.* (1987) propusieron que la infección ocurre generalmente después de algunas semanas del destete,

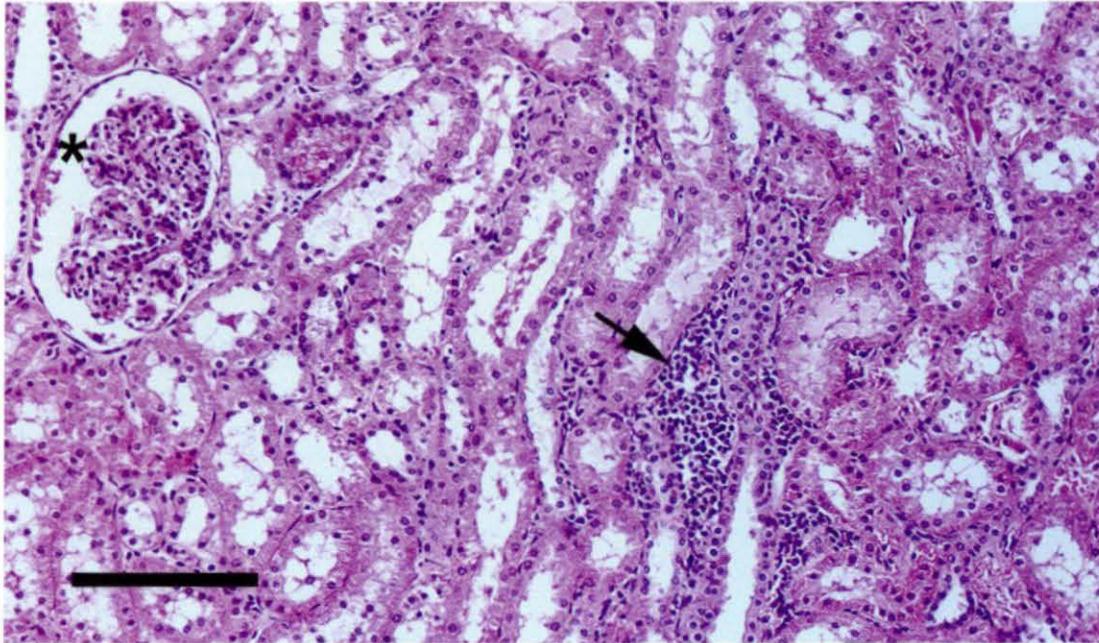


Figura 4. Foco de nefritis intersticial (flecha) de tamaño menor a un glomérulo (asterisco) y formado por linfocitos y células plasmáticas. Tinción: H-E. Barra: 100 μ m.

sugiriendo que las leptospiras ya se habrían eliminado a la edad del sacrificio, aunque la seropositividad todavía esté presente. Por otra parte, el elevado empleo de antibióticos en estos cerdos desmedrados (puesto que generalmente sufren patologías crónicas) podría eliminar la posible infección por leptospiras.

Además de la infección por leptospiras, la NIMF también se ha atribuido a otras infecciones bacterianas. *Corynebacterium spp.*, *E. coli*, *Staphylococcus spp.* y *Streptococcus spp.* fueron aislados de riñones con nefritis intersticial o purulenta (Hunter *et al.*, 1987). Este último trabajo está en concordancia con el presente estudio donde, en nueve casos, se aisló *S. dysgalactiae equisimilis*, *S. suis*, *S. salivarius salivarius* y *E. coli*. En algunos riñones, sin embargo, se observaron discrepancias entre las lesiones y los resultados bacteriológicos. Esto se podría atribuir a: una leve infección bacteriana; poca sensibilidad o especificidad para la identificación de las lesiones macroscópicas en la cadena de sacrificio; o una deficiente recogida de muestras de tejido para el examen bacteriológico o histológico.

Algunos virus, tales como PRRSV, PCV2 y PPV, han sido relacionados etiológicamente con la NIMF en cerdos (Cooper *et al.*, 1997; Rosell *et al.*, 1999; Drolet *et al.*, 2002). Solamente un cerdo tenía PCV2 en un riñón, mientras que no se

detectó ningún PRRSV en las muestras. Sin embargo, el genoma de PCV2 fue detectado en siete tonsilas de cerdo; posiblemente esta infección viral podía ser como consecuencia del Síndrome del Desmedro Multisistémico Postdestete, o de una infección subclínica con PCV2 (Quintana *et al.*, 2001). Los altos títulos serológicos del PPV observados en algunos cerdos sugirieron que éstos provenían de explotaciones con circulación del virus en el cebadero, pero sin poder establecerse asociación entre el PPV y la presencia de PCV2. Por otra parte, la presencia del PPV en estas lesiones no estaba descrita específicamente. Aunque, Drolet *et al.* (2002) encontraron una asociación entre estas lesiones y la presencia de PCV2 y de PPV, que fueron identificados por PCR, no pudieron atribuir un papel etiológico a estos virus en el desarrollo de las lesiones macroscópicas.

Como conclusión, el presente estudio nos permite caracterizar patológicamente los riñones con y sin lesiones macroscópicas encontrados en cerdos desmedrados en matadero. Aunque los resultados serológicos sugieren que una proporción de cerdos sufrió infección por *Leptospira spp.* durante su vida productiva, no se obtuvo ninguna evidencia de infección en el momento del sacrificio. Además, ninguno de los agentes infecciosos detectados se pudieron relacionar claramente

como causa primaria del riñón de "manchas blancas" en cerdos desmedrados en matadero. Así, la NIMF puede ser consecuencia de una infección anterior debida a alguno de los agentes estudiados, o a otros patógenos no estudiados.

Agradecimientos

Los autores agradecen especialmente al Dr. J. E. Nally de la Universidad de California, Los Ángeles (EE.UU.) por donar amablemente uno de los anticuerpos para inmunohistoquímica y al Dr. J. A. Ramos de la universidad de Missouri (EE.UU.) por donar un control positivo para la IHQ de *Leptospira*. Los autores agradecen la ayuda financiera de la Conselleria d'Agricultura, Peixca i Alimentació (Generalitat Valenciana) y también agradecen a Pablo Segura, Idota Ziluga, Itziar del Pozo, Patrici Urribarren y José C. Ibabe por su colaboración.

Bibliografía

Baker, T. F., McEwen, S. A., Prescott, J. F., Meek, A. H., 1989 The prevalence of leptospirosis and its association with multifocal interstitial nephritis in swine at slaughter. *Canadian Journal of Veterinary Research* 53, 290-294.

Boqvist, S., Chau, B. L., Gunnarsson, A., Olsson Engvall, E., Vagsholm, I., Magnusson, U., 2002 Animal and herd-level risk factors for leptospiral seropositivity among sows in the Mekong delta, Vietnam. *Preventive Veterinary Medicine* 53, 233-245.

Boqvist, S., Montgomery, J. M., Hurst, M., Thu, H.T., Engvall, E.O., Gunnarsson, A. and Magnusson, U., 2003 *Leptospira* in slaughtered fattening pigs in southern Vietnam: presence of the bacteria in the kidneys and association with morphological findings. *Veterinary Microbiology* 93, 361-368.

Chappel, R.J., Prime, R.W., Millar, B.D., Mead, L.J., Jones, R.T., Adler, B., 1992 Comparison of diagnostic procedures for porcine leptospirosis. *Veterinary Microbiology* 30, 151-163.

Cheville, N.F., Huhn, R., Cutlip, R.C., 1980 Ultrastructure of renal lesions in pigs with acute leptospirosis caused by *Leptospira pomona*. *Veterinary Pathology* 17, 338-351.

Cooper, V.L., Hesse, R.A., Doster, A.R., 1997 Renal lesions associated with experimental porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV) infection. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation* 9, 198-201.

Drolet, R., D'Allaire, S., Laroche, R., Magar, R., Ribotta, M., Higgins, R., 2002 Infectious agents identified in pigs with multifocal interstitial nephritis at slaughter. *Veterinary Record* 150, 139-143.

Drolet, R., Dee, S. A., 1999 Diseases of the urinary system. In: Straw, B.E., D'Allaire, S., Mengeling, W.L. (Eds.), *Diseases of swine*, 8th Edit. Iowa State University Press, Ames, Iowa, USA, pp. 966-967.

Ellis, T.M., Robertson, G.M., Hustas, L., Kirby, M., 1983 Detection of leptospire in tissue using an immunoperoxidase staining procedure. *Australian Veterinary Journal* 60, 364-367.

Ellis, W.A., 1986 The diagnosis of Leptospirosis in farm animals. In: Ellis, W.A., Little, T.W.A. (Eds.), *The present state of*

Leptospirosis diagnosis and control. Martinus Nijhoff Publishers, Dordrecht, The Netherlands.

Ellis, W.A., 1999 Leptospirosis. In: Straw, B.E., D'Allaire, S., Mengeling, W.L. (Eds.), *Diseases of swine*, 8th Edit. Iowa State University Press, Ames, Iowa, pp. 483-493.

Ellis, W.A., Bolin, C.A., 1996 Leptospirosis. In: *Manual of standards for diagnostic test and vaccines*. Office International des Epizooties (OIE), Paris, France.

Ellis, W.A., Michna, S.W., 1976 Bovine leptospirosis: infection by the Hebdomadis serogroup and abortion - A herd study. *Veterinary Record* 99, 409-412.

Ellis, W.A., Thiermann, A.B., 1986 Isolation of *Leptospira interrogans* serovar bratislava from sows in Iowa. *American Journal of Veterinary Research* 47, 1458-1460.

Faine, S., 1987 Guide pour la lutte contre la Leptospirose. OMS Publication offset 67, Organization Mondiale de la Santé, Genève, Switzerland.

Hunter, P., van der Vyver, F.H., Selmer-Olsen, A., Henton, M.M., Herr, S., de Lange, J.F., 1987 Leptospirosis as a cause of "white spot" kidneys in South African pig abattoirs. *Onderstepoort Journal of Veterinary Research* 54, 59-62.

Jones, R.T., Chappel, R.J., Adler, B. 1987 Macroscopic kidney lesions in slaughtered pigs are an inadequate indicator of current leptospiral infection. *Australian Veterinary Journal* 64, 258-259.

Maxie, M., 1993 The urinary system. In: Jubb, K.V.F., Kennedy, P.C., Palmer, N. (Eds.), *Pathology of Domestic Animals*, Vol 2, 4th Edit. Academic Press, San Diego, California, USA, pp. 447-538.

Michna, S.W., Campbell, R.S., 1969 Leptospirosis in pigs: epidemiology, microbiology and pathology. *Veterinary Record* 84, 135-138.

Muirhead, M.R., Alexander, T.J.L., 1997 Reproduction: infection infertility (Leptospirosis). In: *Managing pig health and the treatment of disease*. 5M, Sheffield, UK, pp. 186-189.

Nally, J.E., Chantranuwat, C., Wu, X.Y., Fishbein, M.C., Pereira, M.M., Da Silva, J.J., Blanco, D.R., Lovett, M.A., 2004 Alveolar septal deposition of immunoglobulin and complement parallels pulmonary hemorrhage in a guinea pig model of severe pulmonary leptospirosis. *American Journal of Pathology* 164, 1115-1127.

Nietfeld, J.C., Leslie-Steen, P., 1993 Interstitial nephritis in pigs with adenovirus infection. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation* 5, 269-273.

Perea, A., García, R., Maldonado, A., Tarradas, M.C., Luque, I., Astorga, R., Arenas, A., 1994 Prevalence of antibodies to different *Leptospira interrogans* serovars in pigs on large farms. *Journal of Veterinary Medicine B, Infectious Diseases and Veterinary Public Health* 41, 512-516.

Quintana, J., Segalés, J., Rosell, C., Calsamiglia, M., Rodríguez-Arriola, G.M., Chianini, F., Folch, J.M., Maldonado, J., Canal, J., Plana-Durán, J., Domingo, M., 2001 Clinical and pathological observations on pigs with postweaning multisystemic wasting syndrome. *Veterinary Record* 149, 357-361.

Ramos, J.A., Marco, A., Kreeger, J.M., Altimita, J., Domingo, M., 1991 Diagnóstico inmunocitoquímico de la leptospirosis canina. *Medicina Veterinaria* 8, 418-423.

Rosell, C., Segalés, J., Plana-Durán, J., Balasch, M., Rodríguez-Arriola, G.M., Kennedy, S., Allan, G.M., McNeilly, F., Latimer, K.S., Domingo, M., 1999 Pathological, immunohistochemical, and in-situ hybridization studies of natural cases of postweaning multisystemic wasting syndrome (PMWS) in pigs. *Journal of Comparative Pathology* 120, 59-78.

Segalés, J., Domingo, M., Solano, G.I., Pijoan, C., 1999 Porcine reproductive and respiratory syndrome virus and *Haemophilus parasuis* antigen distribution in dually infected pigs. *Veterinary Microbiology* 64, 287-297.

Scanziani, E., Sironi, G., Mandelli, G., 1989 Immunoperoxidase studies on leptospiral nephritis of swine. *Veterinary Pathology* 26, 442-444.

Wolff, J.W., 1954 The laboratory diagnosis of leptospirosis. C. Thomas, Ed, Springfield, IL, USA and Blackwell Science Publications, England, UK.