



# INTERACCIONES ENTRE PRRS Y OTRAS ENFERMEDADES RESPIRATORIAS: LA INTERACCIÓN DE PRRS Y PCV2 EN PMWS Y PDNS

Ponencia desarrollada en el Symposium Internacional de Porcinocultura (XXXVI Semana Nacional del Ganado Porcino - SEPOR 2003)

<sup>1</sup> Animal Health Service PO Box 9  
7400 AB Deventer, Holanda

<sup>2</sup> Institute for Animal Science and Health (ID-Lelystad), PO Box 65  
8200 AB Lelystad, Holanda

## RESUMEN

*El PRRS parece jugar un papel importante en el desarrollo de los casos de PMWS y PDNS.*

*Pero no se encontró una asociación completa, lo cual significa que también hay otros factores que debemos investigar.*

*Una combinación de infección por PCV2 al mismo tiempo que otras infecciones tales como cepas de campo de PRRS y/o infecciones duales con una vacunación (MLV) pueden ser dañinos para los animales.*

*La carencia de anticuerpos maternos convierte a los lechones en susceptibles a las infecciones de granja a una edad muy temprana. Esto aumenta la posibilidad de que diferentes agentes puedan infectar a estos lechones en un mismo periodo de tiempo. Los lechones en general son más sensibles y enferman más gravemente.*

*Un programa estratégico de vacunación específico de cada granja frente a p.e., PPV, PRRS, Influenza, M.hyo, App, etc. de las cerdas de reposición, multíparas y verracos de la granja puede reducir las infecciones y mejorar la inmunidad calostrual.*

*Con la ayuda de una composición del pienso y un régimen de alimentación adecuados en el final de la gestación y en la sala de partos podemos conseguir que se produzca una cantidad adecuada de calostro y leche.*

*El incremento en las infecciones por PRRS dual o multicepas en las granjas puede ser un serio argumento para empezar un programa de erradicación de PRRS para conseguir ser libres de dicha enfermedad. Esta puede ser una respuesta para evitar todas las posibles interacciones con todos los demás agentes patógenos mencionados en este artículo.*

## ABSTRACT

*PRRS seems to play an important role in the development of PMWS and PDNS cases.*

*But there was not found a complete association which means that also other factors need to be investigated. A combination of PCV2 infection at the same moment with other infections eg PRRS field strains and or dual infection with a vaccination (MLV) may be harmful for such a pig.*

*A lack of maternal antibodies makes piglets already sensitive for herd infections at a young age. This increases the possibility that different agents can infect such young piglets in the same period of time. Young pigs in general are more sensitive and get more severely diseased.*

*A strategic herd specific vaccination program against e.g. PPV, PRRS, INFLUENZA viruses, M.hyo, App, etc of the gilt pool, sows and the boars on the farm can reduce the infections and improve the amount of colostrum immunity.*

*With help of a proper feed composition and feeding scheme in late gestation and in the farrowing house can be helpful in boosting the colostrum and milk production.*

*The increase of PRRS dual or multi strain infections in the herds may be a serious argument to start a PRRS eradication program to get free from PRRS. This may be an answer to avoid all the possible interactions with all other disease agents mentioned in this paper.*



## INTRODUCCIÓN

**C**uando en 1991 los investigadores holandeses empezaron a intentar aislar la causa de la enfermedad denominada enfermedad de los "cerdos de orejas azules" (Blue Eared Pig disease), los americanos también llevaban varios años enfrentándose a una enfermedad denominada enfermedad misteriosa porcina (Mystery Swine Disease; MSD) o síndrome de infertilidad y respiratorio porcino (Swine Infertility and Respiratory Syndrome; SIRS).

Desde el primer caso se estuvieron enviando cerdos vivos al Lelystad Central Veterinary Institute. Se recogieron muestras de suero pareadas de grupos enfermos y se testaron para los distintos agentes que pudieran ser tenidos en cuenta como una posible causa de dicha enfermedad.

A partir de que el aislamiento del virus Lelystad (VL) de macrófagos pulmonares fue un hecho, los sueros también fueron testados para dicho agente mediante un simple IPMA. Ahora este VL se conoce como cepa europea del virus PRRS.

A partir de este estudio también fue sorprendente descubrir que en muchas de las granjas que sufrieron la fase aguda de la "enfermedad de los cerdos de orejas azules" también estaban activos muchos otros agentes en parte de esos animales.

Considerando las diferencias en bajas entre granjas durante el episodio de 1991, posteriormente se ha hipotetizado sobre las posibles diferencias en la virulencia de los virus o en una combinación del virus PRRS con uno o varios virus distintos que estuvieran activos en esos animales (o grupos).

Se presentó una lista de 13 virus presentes en tales combinaciones incluyendo HEV, H1N1, N3N2, PRV, PPV, EMCV (2 cepas), PEV (4 cepas), BVDV y HCV. Tan solo no se encontraron anticuerpos frente a BVOD y HCV. Contra los otros agentes los sueros de entre 2 y 8 de estas granjas mostraban seroconversión determinada por cinética creciente de anticuerpos.

Un hallazgo interesante en las investigaciones experimentales con VL PRRSV fue que, cuando se inocularon lechones jóvenes (1 semana de edad), los lechones desarrollaron problemas respiratorios más graves que los lechones mayores (7-8 semanas de edad) en los cuales solo se podían reproducir síntomas



PDNS: los riñones aparecen aumentados de tamaño y con áreas tanto aumentadas como disminuidas de color.

Cortesía del Dr. G. Ramis

típicos de la enfermedad leves y lesiones patológicas moderadas o no se podían reproducir.

Este hallazgo estaba en contra de las observaciones de campo donde se observan problemas respiratorios en lechones destetados y animales de cebo con bastante frecuencia.

A pesar de esto el grupo de Lelystad tenía dificultades para reproducir los problemas respiratorios en cerdos. Otras investigaciones demostraron que en las granjas infectadas por PRRS se aislaban con más frecuencia los siguientes agentes bacterianos: *Haemophilus parasuis*, *Streptococcus suis*, *Mycoplasma*, *Actinobacillus pleuropneumoniae*, *Bordetella bronchiseptica*, *Pasteurella multocida* y *Salmonella choleraesuis*.

Los sueros testados para hacer diagnósticos diferenciales mostraron títulos aumentados frente a los virus de enfermedad de Aujeszky, Influenza, Encefalomiocarditis y Parvovirus.

Se formularon distintas hipótesis, todas especulando sobre una interacción entre PRRSV con un agente (común) el cual actuaría ahora como un desencadenante empeorando los síntomas clínicos y patológicos.

Se han descrito diversos resultados para dilucidar este fenómeno, por ejemplo:

- PRRSV con *Streptococcus* spp
- PRRSV con *Salmonella choleraesuis*
- PRRSV con *Actinobacillus pleuropneumoniae*



## INTERACCIONES ENTRE PRRS Y OTRAS ENFERMEDADES RESPIRATORIAS: LA INTERACCIÓN DE PRRS Y PCV2 EN PMWS Y PDNS



PMWS. Los ganglios inguinales aumentan de tamaño considerablemente apreciándose incluso a través de la piel.  
Cortesía del Dr. G. Ramis

PRRSV con PRCV  
PRRSV con virus de *Influenza*  
PRRSV con *Mycoplasma hyopneumoniae*  
PRRSV con PCV2

Podemos sacar en conclusión que una combinación de agentes empeora los síntomas clínicos y/o los hallazgos patológicos en comparación con las infecciones simples. También se demostró que había diferencias entre las distintas cepas de PRRSV, lo que indicaba diferencias en virulencias y patogenicidad.

### PRRSV Y SU RELACIÓN CON PMWS Y PDNS

Los problemas con el síndrome de desmedro multisistémico postdestete (post-weaning multisystemic wasting syndrome; PMWS) y síndrome dermatitis nefropatía porcina (porcine dermatitis nephropathy syndrome; PDNS) en Holanda se convirtieron en un problema de importancia económica en 1996/1997 y han causado graves pérdidas durante los últimos años. Las pérdidas causadas por PMWS/PDNS en la producción porcina se estimaron en cerca de 20 millones de euros en 2001. Desde 1997 el

PMWS/PDNS se ha diseminado por la población porcina holandesa. En 2000 cerca del 15% de las granjas sufrieron esta enfermedad con diversa gravedad. En 2002 la prevalencia aumentó hasta casi más de la mitad de las granjas.

Puesto que las investigaciones con PCV2 en ensayos experimentales no induce los síntomas clínicos y patológicos de la gravedad de los encontrados en los casos de campo, surgió la hipótesis de que PCV2 necesita agentes desencadenantes o factores potenciales de riesgo para expresar el cuadro completo observado en el campo.

Distintos investigadores han encontrado un amplio rango de agentes aislados de cerdos que sufrían PMWS o PDNS.

El laboratorio alemán Bioscreen describió en 2000 que 432 animales con PMWS fueron positivos además de a PCV2, a cepas salvajes de PRRSV en el 75,9% de los casos, mientras que *Haemophilus parasuis* apareció en el 13,4% y *E. coli* y *S. suis* en un 7,7% y 7,2% respectivamente. También se encontró PRCV en el 7,2%; el resto de los patógenos comunes estuvo entre el 4,4 y el 1,4%.



Además de tener un tamaño muy aumentado se aprecia una conformación macroscópica anormal en los ganglios inguinales superficiales.

Cortesía del Dr. G. Ramis



Los animales afectados por PMWS pierden la condición corporal rápidamente. Sin embargo, no es la única patología que produce adelgazamiento rápido.

Cortesía del Dr. G. Ramis

En 2002 este grupo encontró, analizando materiales específicos de PMWS, una combinación de PRRSV y PCV2 en el 60% de los mismos y un 11% estaba coinfectado con PPV, mientras que en los casos de PDNS el 30% fue positivo a PPV.

En 2001 se desarrolló una investigación para estimar la prevalencia de PCV2 en la población porcina holandesa. Esta investigación demostró que entre el 94 y el 100% de las granjas de reproductoras holandesas (95% de nivel de confianza) tenían anticuerpos frente a PCV2.

Dado que no todas las granjas holandesas sufren PMWS o PDNS, creemos que existen agentes desencadenantes o factores de interferencia.

## ESTUDIO CASO-CONTROL: ENCUESTA

En 2002-2003 se desarrolló un estudio caso-control en Holanda. Se realizó una encuesta sobre 70 granjas, 30 granjas caso con PMWS y 30 granjas control. También se realizó la encuesta en 10 granjas con y sin PDNS. En 5 granjas estaba presente PMWS y PDNS de acuerdo con los niveles de aceptación. Se usó la siguiente definición de PMWS, granjas o cebos de cerdos que mostraban una combinación de los siguientes síntomas clínicos durante más de 3 meses en al menos un 2% de los cerdos de entre 6-14 semanas: palidez, desmedro, fiebre, problemas respiratorios y agrandamiento de los ganglios. También el incremento de mortalidad en el periodo de transición y cebo fue del 2% o más que la anterior media de la granja. La definición de caso de PDNS fue: granjas en las que se observaron 3 cerdos con los síntomas típicos incluyendo lesiones cutáneas durante la visita a la granja. Los casos fueron cruzados con controles en base a la localización geo-

gráfica y el tamaño de granjas. La definición de control fue: granjas libres de signos clínicos de PMWS y PDNS y sin histórico de ambas enfermedades al menos durante un año.

El cuestionario fue rellenado durante una visita personal a la granja e incluía los siguientes temas:

- Sección general sobre tamaño de la granja, tipo de producción, edad, presencia de otros animales en la granja, principios higiénicos, granjas vecinas que se supiera que estaban afectadas.
- Composición del pienso y régimen de alimentación.
- Aspectos reproductivos, líneas de cerdas, líneas de machos y uso de IA.
- Manejo en paridera y engorde.
- Otras enfermedades que aparezcan en la granja. Estrategias de vacunación y medicación.
- Estrategias higiénicas, incluyendo limpieza y desinfección.
- Impresión general del manejo y los factores estresantes.

La estadística se realizó usando un modelo lineal general (PROC GENMOD in SAS), contando con un diseño cruzado.

1<sup>er</sup> paso: chequeo univariable de las variables ( $P < 0,10$ ).

2<sup>o</sup> paso: modelo multivariable de sitio de variables del primer paso ( $P < 0,10$ ).

Paso final: modelo multivariable con  $P < 0,10$  de las variables del 2<sup>o</sup> paso.

Los siguientes parámetros no mostraron significancia con respecto a PMWS y PDNS:



## INTERACCIONES ENTRE PRRS Y OTRAS ENFERMEDADES RESPIRATORIAS: LA INTERACCIÓN DE PRRS Y PCV2 EN PMWS Y PDNS

- La edad de los lechones.
- Otros animales en la granja, pájaros o roedores.
- Presencia regular de visitantes en la granja.
- Visitas a otras granjas por parte del granjero.
- Condiciones higiénicas en y alrededor de la granja.
- Granjas con PMWS en cercanías de la granja.
- Estrategias de producción (p.e., adopciones).
- Tratamientos de los cerdos.
- Inseminación.
- Introducción de reposición.
- Uso de habitaciones separadas para los cerdos enfermos.
- Adopciones de lechones después del día 2 de vida.
- Edad de destete.
- Mezclado de lechones recuperados.
- Sistemas de alojamiento de lechones y cebos.
- Uso de todo dentro-todo fuera.
- Aparición clínica de diferentes enfermedades tales como mioclonia congénita, debilidad, *M. hyopneumoniae*, App, pasterelosis, sarna, brachispira, úlceras gástricas.

Los análisis univariados ( $P < 0,10$ ) mostraron que en relativamente más granjas caso para PMWS en comparación con las granjas control:

- 1) El granjero observó PDNS, PRRS, PPV, Meningitis, Coccidiosis y diarrea predestete.
- 2) Se usaba más frecuentemente vacuna MLV frente a PRRS y *Mycoplasma*.
- 3) Se registró que en las naves de cerdas el clima era menos óptimo, el tamaño de camada era mayor, mayor variación en la edad de destete, más lechones dados en adopción, más problemas de encalostamiento o producción de calostro.
- 4) (Histórico) Uso de efectivo reproductor (incluyendo semen para inseminación artificial) de origen anglosajón.

La asociación más fuerte que influyó en el modelo estadístico final fue:

- 1) la presencia de problemas clínicos de PRRS (y consecuentemente el uso de vacunas frente a PRRS) ( $P < 0,000$ ),
- 2) (histórico) uso de efectivo reproductor (incluyendo semen para inseminación artificial) de origen anglosajón ( $P = 0,085$ ).

Debemos hacer constar que la vacunación frente a PRRS comenzó en la mayoría de los casos varios meses después de la aparición de los problemas clínicos de PMWS. Por tanto, podemos excluir que la vacunación frente a PRRS sea un factor primario causante de los problemas de PMWS.

El análisis de los casos control de PDNS mostró resultados comparables con los obtenidos en el estudio de PMWS.

Debemos enfatizar que un estudio caso-control puede producir asociaciones con factores potenciales de riesgo que no tienen que estar (pero también podría ser) casualmente relacionadas con la aparición de enfermedad.

Para investigar si los factores están relacionados casualmente con la aparición de enfermedad, estos factores deben testarse en estudios experimentales.

### PRRSV EN CERDOS AFECTADOS POR PMWS EN UN ESTUDIO CASO-CONTROL

El curso de la mayoría de las infecciones por PCV2 es subclínico; por eso, ciertos cofactores pueden influir en la gravedad de dichas infecciones. Los estudios de infección experimental mostraron que la enfermedad grave se puede reproducir en cerdos SPF con infección concurrente por PCV2 y PRRSV.

Este estudio de caso-control se desarrolló para profundizar en el papel que el PRRSV puede jugar en él, y en la frecuencia de infecciones por cepas europeas (EU) y americana (US) de PRRSV en cerdos caso y control.

1. A partir de 20 granjas diferentes, se seleccionaron 3 cerdos diagnosticados como enfermos clínicos de PMWS y se examinaron post-mortem ( $n = 60$ ). Se seleccionaron de cada caso de PMWS, cerdos control de la misma edad y peso que los casos de PMWS pero sin síntomas clínicos.
2. Alojados en el mismo compartimento que los casos de PMWS ( $n = 60$ ).
3. De otro compartimento pero dentro de la misma granja PMWS+ (granjas control:  $n = 60$ ).
4. De una granja control dentro de la misma localización geográfica que la granja PMWS positiva, pero sin PMWS y PDNS ( $n = 60$ ).

De cada cerdo, se tomaron a la necropsia muestras de sangre y tejidos para su posterior examen. Se tomaron datos del uso de vacunas, por ejemplo, contra PRRSV y *Mycoplasma hyopneumoniae*, de cada granja caso y control.

En los 60 cerdos afectados por PMWS con lesiones macroscópicas graves se observaron niveles de infección de moderados a altos por PCV2 detectado por aislamiento vírico o combinación de dicho aislamiento y detección de ADN de PCV2 mediante KR, respectivamente en el 87% y 100%. De los 60 cerdos control procedentes de las granjas libres de PMWS se detectó PCV2 mediante aislamiento o combinación de ais-



lamiento y KR, respectivamente en el 30% y 50%, pero la cantidad de virus infecciosos y de ADN de PCV2 fue mucho menor que en los cerdos afectados por PMWS.

En 18 (90%) de las 20 granjas caso PMWS examinadas y en el 45% de las granjas control se detectaron ARN y/o anticuerpos frente a PRRSV. ARN de PRRSV y/o anticuerpos frente a PRRSV se detectaron en el 83% de los casos de PMWS y en el 35% de los cerdos control de las granjas libres de PMWS. Los cerdos positivos a PRRSV también se incluyeron para determinar la frecuencia de infecciones por PRRSV en casos y controles de PMWS como anticuerpos medidos por PRRSV ELISA, detectados en cerdos mayores de 8-9 semanas, indicando una respuesta inmune activa frente a PRRSV.

## PPV

En los casos de PMWS el PPV no fue detectado por PCR (0%). Se encontraron anticuerpos frente a PPV en el 63% de los casos de PMWS y en el 67% de los controles. Lo más probable es que estos anticuerpos fueran maternos.

## PREVALENCIA DE LAS CEPAS EU Y US DE PRRSV

Se detectó coinfección por las cepas EU y US de PRRSV en el 60% de las granjas PMWS+, mientras que solo una (5%) de las 20 granjas control presentaba coinfección por PRRSV-EU y -US, esta antes de tomar las muestras. No se encontraron infecciones por parvovirus porcino en los cerdos examinados tanto caso como control.

Se usaban vacunas frente a PRRSV en 14 de 20 granjas caso PMWS y en ninguna de las 20 granjas control. Excepto en dos, la mayoría de las granjas empezaron a vacunar después de que aparecieran los síntomas similares a PRRS. También se detectó coinfección por PRRSV-EU y -US en 3 (50%) de 6 granjas caso PMWS que no vacunaban frente a PRRSV.

En solo 4 de las granjas caso PMWS y 2 granjas control se usaba vacuna frente a *Mycoplasma hyopneumoniae*.

Se ha hipotetizado que nuevas cepas de PRRSV con una patogenicidad aumentada podrían haber sido responsables de nuevas epizootias en la población porcina holandesa. La introducción de nuevas cepas de MSV, o la aparición de mutantes de PRRSV debida a las altas presiones inmunitarias, podrían haber contribuido al aumento en nuevos casos de PMWS registrado en los últimos 5 años.

## OTRAS INFECCIONES VÍRICAS

Se han testado muestras de sangre y/o tejidos para detectar la presencia de otras infecciones víricas, p.e., parvovirus porcino (PPV), virus de la hepatitis E, pan-pestivirus, herpesvirus ovino 2 (OHV-2); en combinación con la detección de anticuerpos con reacción cruzada dirigidos frente a herpesvirus alcelafina 1 (AHV-1), coronavirus porcinos, TGEV, PRCV y PEDV y los virus de influenza H1N1, H1N2 y H3N2.

Se detectaron anticuerpos en el grupo de cerdos PMWS frente a PRCV (100%), H1N1 (30%), H1N2 (5%), H3N2 (40%). En los cerdos del grupo control estos porcentajes fueron del 100%, 24%, 0%, 35%, respectivamente. No se encontraron diferencias significativas al comparar ambos grupos.

## BACTERIOLOGÍA

El examen bacteriológico de los órganos tras la necropsia reveló ocasionalmente la detección de bacterias patógenas, p.e., *Streptococcus suis* tipo 2, *Actinobacillus pleuropneumoniae*, *Mycoplasma* spp y *Haemophilus* spp, pero no se encontró asociaciones con PMWS. *Salmonella* spp se detectó en 3 de las 15 muestras de heces recogidas de los casos de PMWS. El aumento en el número de infecciones endémicas por bacterias en los casos de PMWS podría deberse a las infecciones por PCV2 y/o PRRSV.

Este estudio de caso-control de PMWS indica una asociación entre la cantidad de PCV2 infeccioso (y la carga de ADN de PCV2) y la gravedad de la clínica y las lesiones histopatológicas documentadas para PMWS. El título de PCV2 infeccioso (y la carga de ADN de PCV2) fue en casi todas las ocasiones mucho mayor en los cerdos afectados por PMWS que en los cerdos control procedentes de granjas libres de a PMWS.

Se pudo detectar PCV2 infeccioso en el 30% de esos cerdos control sin síntomas clínicos, aunque se pudieron detectar lesiones macroscópicas e histopatológicas moderadas tales como nefritis, neumonía y ganglios aumentados de tamaño en algunos de estos cerdos control. Los datos sobre la carga vírica de PCV2 indican que el desarrollo de PMWS requiere un cierto nivel de infección por PCV2.

La introducción de vacunas frente a PRRSV en las granjas PMWS con PRRS podría haber influido en nuestros resultados con respecto a la frecuencia. Es interesante que el 27% de los cerdos afectados por PMWS no produjeron títulos de anticuerpos detectables frente a PCV2 o los títulos fueron muy bajos, pese a que se podían detectar cargas de PCV2 muy altas en estos cerdos.



## INTERACCIONES ENTRE PRRS Y OTRAS ENFERMEDADES RESPIRATORIAS: LA INTERACCIÓN DE PRRS Y PCV2 EN PMWS Y PDNS

El curso de la mayoría de las infecciones por PCV2 es subclínico, por lo que ciertos cofactores podrían influir en la gravedad de esas infecciones por PCV2.

### PRRSV EN CERDOS AFECTADOS POR PDNS EN UN ESTUDIO CASO-CONTROL

El síndrome de dermatitis y nefropatía porcina (Porcine dermatitis and nephropathy syndrome; PDNS) es una enfermedad emergente en lechonerías y cebos que cada vez se detecta con más frecuencia en los países productores de porcino de todo el mundo. En la fase aguda, el PDNS podría confundirse con la peste porcina clásica y, por tanto, se requieren más conocimientos de los factores involucrados en la etiología del PDNS. Hasta ahora se sospecha que hay numerosos factores involucrados en la patogenia del PDNS, incluyendo el PRRSV y recientemente el PCV2. Pero, el papel de PRRSV y PCV2 en la etiología de PDNS aún no se ha determinado. Este estudio caso-control se desarrolló para profundizar en los factores que podrían estar involucrados en la etiología del PDNS.

#### Materiales y métodos

Se seleccionaron 3 cerdos afectados por PDNS de 10 granjas diferentes y se examinaron postmortem las lesiones macroscópicas e histopatológicas (n=90). Se seleccionaron controles en:

- 1) del mismo departamento que los casos de PDNS,
- 2) otros departamentos dentro de la misma granja,
- 3) cerdos control de otra granja sin historial de PDNS o desmedro multisistémico (PMWS).

Por cerdo, se tomó a la necropsia sangre y 10 órganos diferentes para su posterior examen. El suero y las muestras de órganos se recogieron para la detección de anticuerpos, bacterias y virus. Los pulmones, ganglios linfáticos y los riñones se examinaron en busca de depósitos de inmunocomplejos. Se realizó inmunohistoquímica para la detección de antígenos de PCV2, inmunoglobulinas IgA, IgG1+ IgG2 e IgM, los factores de complemento C1q, C3 y C5, y la presencia de células CD8+. Los datos epidemiológicos recogidos en las granjas caso y control fueron:

- a) el historial sobre PMWS y PDNS, y
- b) el uso de vacunas frente a PRRSV.

#### Resultados

Las lesiones macroscópicas e histopatológicas fueron comparables con aquellas documentadas previamente en PDNS, p.e., lesiones renales con glomerulonefritis exudativa con depósitos de inmunocomplejos y fibrosis intersticial moderada. Los túbulos

renales mostraron acúmulos proteináceos (fibrinosos). Además, la histopatología mostró vasculitis sistémica necrotizante, y necrosis epidérmica y dérmica superficial.

#### Infecciones víricas

Ocasionalmente, el PCV2 infeccioso pudo determinarse en órganos de animales con PDNS, así como de 3 animales del grupo control, y no se pudieron encontrar diferencias en la carga vírica entre los gru-



PDNS. Una de las principales características de la enfermedad es la aparición de lesiones cutáneas en jamones, periné, testículos, patas delanteras y orejas.

Cortesía del Dr. G. Ramis

pos caso y control. El ADN del circovirus porcino tipo 2 se detectó en el 100% de los casos de PDNS y principalmente en tejido linfóide como los ganglios linfáticos mesentéricos e inguinales y tonsilas.

En el 63% de las muestras de piel y solo en el 53% de las de riñón se pudo detectar ADN de PCV2, pese a que estos órganos siempre están afectados en los casos de PDNS. El ADN de PCV2 se encontró en el 63% de los controles procedentes de una granja libre de PDNS.

PRRSV se encontró en cerdos de 9 de las 10 granjas. La cepa americana de PRRSV pudo detectar en 2 granjas y en 7 se encontró la cepa europea de dicho virus.

Los porcentajes de cerdos infectados por PRRSV de cada grupo determinado por PCR + Elisa y solamente PCR son los siguientes:

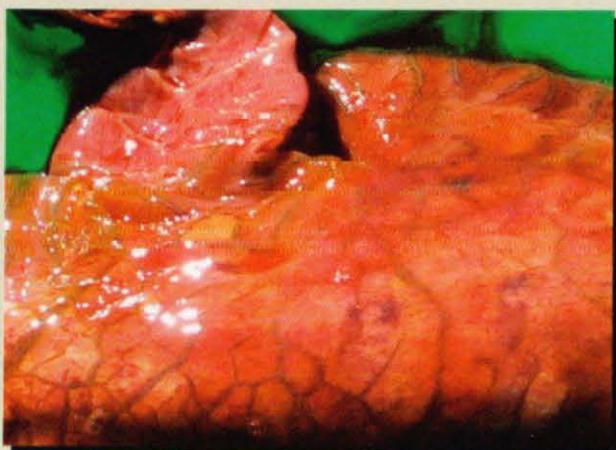
PDNS .....	83% y 67%
Controles del compartimento .....	80% y 53%



Controles de la misma granja .....70% y 57%  
Controles de granjas libres .....60% y 23%

En contradicción con PCV2, no fue posible detectar PRRSV o anticuerpos frente a PRRSV en todos los cerdos con PDNS.

Junto con la detección de ADN de PCV2 en los órganos linfoides del 100% de los casos de PDNS, todos los casos de PDNS mostraron de forma constante títulos de anticuerpos frente a PCV2 extremadamente altos.



PMWS. Los pulmones no colapsan, las pleuras aparecen brillantes y se aprecia edema intersticial. En este caso además se aprecia tinte icterico. **Cortesía del Dr. G. Ramis**

En los cerdos PDNS los títulos llegaban a 1: 204.800, mientras que en los controles del mismo departamento promediaron 1: 51.200 y los controles del departamento sano de la misma granja alcanzaron 1: 6.400. El título promedio de los controles de granjas libres de PDNS fue 1: 1.600.

Los títulos medios de anticuerpos frente a PCV2 encontrados en el grupo caso de PDNS fue significativamente mayor que los títulos de anticuerpos frente a PCV2 de los animales de las granjas control. En total el 80% de los casos de PDNS y el 60% de los cerdos de las granjas control fueron serológicamente positivos a PRRSV.

## PPV

En los casos de PDNS, se detectó PPV por PCR en el 33%, mientras que en los controles en el 23%.

Se encontraron anticuerpos frente a PPV en el 27% de los casos y el 63% de los controles.

## Vacunación frente a PRRSV

En 8 de las 10 granjas PDNS y en 2 de las 10 control se usaban vacunas frente a PRRSV. En una granja PDNS no se detectó PRRSV y no se usaban vacunas frente al virus, aunque los cerdos afectados por PDNS presentaban títulos de anticuerpos frente a PCV2 extremadamente altos. Se registró una combinación de PCV2 + PRRS + vacunación frente a PRRSV en 9 de las 10 granjas PDNS y en 1 de las control.

## Inmunohistoquímica

La investigación mediante inmunohistoquímica reveló que se podían detectar en los inmunocomplejos renales IgM, IgG1+IgG2, C3 y C1q. También se detectaron IgA y C5 pero en concentraciones menores comparadas con las de IgM y C3, respectivamente. En la mayoría de los riñones se detectó una cantidad aumentada de células CD8+, en contra de lo observado en los riñones de los animales libres de PDNS.

El examen inmunohistoquímico sobre cortes congelados de pulmón y riñones reveló que se detectaba antígeno de PCV2 en los macrófagos (alveolares y en podocitos) en las regiones intersticiales. No se detectaron antígenos de PCV2 como componente de los depósitos o inmunocomplejos.

## Bacteriología

El examen bacteriológico de los órganos a la necropsia reveló la presencia de diversas bacterias patógenas, pero no se pudo establecer ninguna relación con el PDNS. Exámenes posteriores de los riñones, piel, tonsilas y pulmones de 11 cerdos PDNS y 3 controles (de 7 granjas) demostraron que todos los riñones de cerdos afectados por PDNS fueron bacteriológicamente negativos. Los tejidos cutáneos podían contener *Staphylococcus hyicus* o *Staphylococcus* spp hemolítico, y se pudo aislar *Pasteurella multocida* de tan solo 3 cerdos afectados por PDNS (2 granjas diferentes) de las tonsilas y el tejido pulmonar. No se pudo aislar *Pasteurella multocida* de ninguno de los otros 8 casos de PDNS.

## INFECCIONES EXPERIMENTALES

Inoculación experimental de cerdos SPF con PCV2 solo o en combinación con otros virus porcinos o inmunestimulación.

32 cerdos SPF de 3-4 semanas de edad se dividieron en 7 grupos (4 cerdos por grupo). El grupo 1 sirvió de control y el grupo 2 se inoculó con PCV1. Los cerdos de los grupos 3 al 7 se inocularon con una cepa



## INTERACCIONES ENTRE PRRS Y OTRAS ENFERMEDADES RESPIRATORIAS: LA INTERACCIÓN DE PRRS Y PCV2 EN PMWS Y PDNS

holandesa de PCV2 (AF201897; 10-3,9 TCD 50/ml). Los cerdos del grupo 3 se inocularon solo con PCV2. A los cerdos del grupo 4 además se les inoculó una vez el día 0 con PPV, mientras que el grupo 5 recibió PRRSV (tipo EU).

El grupo 6 recibió ICFA y el grupo 7 se vacunó con una vacuna frente a *M. hyopneumoniae* (Stellamune) los días 2, 14 y 35. Un 8º grupo fue tratado con PCV2 y una vacuna MLV frente a PRRS americano con el mismo protocolo descrito para el grupo 7. Los cerdos se siguieron hasta 70 días postinoculación.

No se observaron signos clínicos ni en el grupo control ni en los animales inoculados con PCV1 y ambos grupos fueron negativos a PCV2 por aislamiento vírico.

En total murieron 8 lechones entre los días 22 y 34 postinfección de los siguientes grupos:

Grupo 3 (PCV2) .....2, día 22 y día 33.  
Grupo 4 (PCV2+PPV) .....2, día 27 (2x)  
Grupo 5 (PCV2+PRRS) .....3, día 26 y 33 (2x)  
Grupo 7 (PCV2+M.hyo vacc.) .....1, día 34

En estos cerdos los signos más evidentes fueron distress respiratorio, condición corporal pobre, pérdida de peso progresiva y palidez. Se observó cojera en uno de los cerdos inoculados con PCV2 en combinación con la vacuna frente a *Mycoplasma*.

Se observaron cambios patológicos moderados a graves en 5 de 8 cerdos en pulmones e hígados, en combinación con lesiones en los ganglios linfáticos. La depleción linfocitaria fue más grave en dos de los cerdos del grupo 5 (PCV2 + PRRSV-EU). Se observó una neumonía broncovascular intersticial con una inflamación granulomatosa focal en todos los cerdos infectados concurrentemente con PCV2 + PRRSV-EU.

Los hallazgos patológicos más evidentes en los cerdos al final del periodo de observación fueron cambios inflamatorios de distribución multisistémicos en riñones, pulmones, hígado y miocardio.

La nefritis se caracterizó por una infiltración mononuclear intersticial y solo en unos pocos casos acompañados con cambios glomerulares.

En general, se observó una activación de los ganglios, pero sin depleción linfocitaria.

Un hallazgo interesante fue que tan solo se observaron cambios clínicos e histopatológicos moderados en el grupo PCV2 inyectado con ICFA.

El PCV2 se pudo aislar de muchos órganos de los cerdos inoculados con PCV2 pero la mayor carga de ADN del virus se encontró en pulmones, ganglios linfáticos mesentéricos e inguinales, bazo y tonsilas (mayor que  $10 \times 6$  copias de ADN H/vol.).

Pese a los datos interesantes aportados por el grupo 8 se descartó de la prueba porque este grupo se infectó durante el ensayo con el PPV del grupo 4.

### DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

#### La encuesta

De los resultados de la encuesta concluimos que pese a los datos registrados en la literatura, los factores de alojamiento e higiene no mostraron diferencias significativas entre los casos PMWS y las granjas control, así como entre los grupos caso de PDNS y los control.

- Fueron interesantes los hallazgos concernientes a los aspectos de "disponibilidad" de calostro y adopciones en las primeras 48 horas en las granjas caso. Una carencia de ingesta de calostro no se puede reparar después de 24 horas.
- En las granjas caso los problemas con el PRRS son más frecuentes. Esta fue la razón por la cual veterinarios y granjeros decidieron comenzar vacunaciones frente a PRRS con vacunas MLV en las granjas caso, lo cual explica el uso significativo de vacunas en estas granjas. Los efectos de tal intervención no estaban claros. La interferencia de las vacunas MIV y las cepas de campo en las granjas PMWS requieren más investigación.
- Las diferencias significativas de meningitis, salmonellosis y p.e. coccidiosis puede estar relacionadas con un sistema inmune deprimido.
- El PDNS se observa con más frecuencia en grupos de cerdos de granjas que también tenían graves problemas de PMWS o histórico.
- La influencia de las diferencias en las líneas genéticas requieren más investigación.

#### PRRSV y su relación con PMWS y PDNS

En este estudio de caso-control, se pudieron encontrar infecciones por diversas bacterias y virus pero nosotros somos incapaces de definir ninguna asociación clara con el PMWS, excepto para las infecciones por PRRSV. El PCV2 y las infecciones concurrentes por PRRSV se podían detectar en al menos el 83% de los cerdos afectados por PMWS, y solo en el 35% de los cerdos control de granjas libres de PMWS. Los cerdos seropositivos frente a PRRSV también se incluyeron para calcular la frecuencia de infecciones por PRRSV en los casos de PMWS y en los con-



troles como anticuerpos por ELISA, detectados en cerdos mayores de 8-9 semanas, indicativo de una respuesta inmune activa frente a PRRSV.

Una mayor frecuencia de infecciones por PRRSV en cerdos con PMWS indica una posible asociación entre PRRSV, o ciertas cepas de PRRSV, en el desarrollo de la enfermedad en toda su gravedad. Rovira et al. demostraron que una infección concurrente de PCV2 y PRRSV produjo un aumento en la carga viral de PCV2, y que las infecciones por PRRSV potencian la replicación de PCV2. El PRRSV también podría ser un factor predisponente importante para el desarrollo de PMWS.

### **Infecciones duales por PRRS**

Este estudio también mostró que las infecciones duales por cepas PRRSV-EU y -US pueden acontecer en las granjas con PMWS. Las infecciones duales se registraron solo en granjas PMWS+ y en una granja control con histórico de PMWS. Las infecciones fueron duales pero:

a) También en el 50% de las granjas PMWS sin vacunación frente a PRRSV se observaron infecciones duales por cepas EU y US, y

b) En 8 granjas solo se detectó la cepa PRRSV-US en cerdos con PMWS con la enfermedad clínica grave.

La influencia de la introducción de una nueva cepa de PRRSV, o la aparición de cepas mutantes de PRRSV debido a una fuerte presión inmune, sobre el incremento en los casos de PMWS de los últimos 5 años, todavía no está clara. Por tanto, nuevas variantes de PRRSV con una patogenicidad aumentada podrían haber sido las responsables de nuevas epizootias en las poblaciones porcinas holandesas, e indirectamente en un aumento de PMWS. Se necesita muchas más investigaciones que apoyen esta teoría.

Además, puesto que los cerdos holandeses pueden estar infectados por las cepas PRRSV-EU y -US, los materiales obtenidos de cerdos con síntomas clínicos de PRRS se deberían testar para determinar el tipo de cepa antes de iniciar una vacunación.

La vacunación heteróloga, frente a PRRSV, podría ser menos efectiva que la vacunación homóloga.

El estudio caso control de PMWS indica que:

1. Hay una asociación entre la cantidad de PCV2 infeccioso (y la carga de ADN de PCV2) y la gravedad de la clínica y las lesiones histopatológicas documentadas para PMWS.
2. El PRRSV es probablemente un cofactor importante en el desarrollo de PMWS puesto que las infecciones por PRRSV fueron detectadas significativamente más a menudo en cerdos afectados por PMWS que en cerdos control procedentes de granjas libres de PMWS.

Las coinfecciones por PRRSV-EU y -US solo se registraron en granjas PMWS+ y en granjas control con histórico de PMWS.

Este es el primer reporte presentando una asociación entre los títulos de anticuerpos frente a PCV2 y los signos de PDNS, y por tanto este estudio perfila la hipótesis de que PCV2 juega un papel importante en el desarrollo de PDNS. Se ha sospechado de la participación de diversos patógenos víricos y bacterianos en la patogénesis de PDNS, incluyendo PCV2, pero aún no se ha encontrado ninguna evidencia clara.

Nosotros somos capaces de detectar ADN de PCV2 en todos los cerdos afectados de PDNS, no en órganos gravemente afectados como el riñón o la piel, sino en los tejidos linfoides. Esto indica que en los cerdos con PDNS el PCV2 persiste en los órganos linfoides, a pesar de los altos niveles de anticuerpos frente a PCV2. Pese a que se detecta ADN de PCV2 en todos los casos de PDNS, la detección de ADN no se puede usar como un arma diagnóstica para diferenciar entre casos de PDNS y controles, puesto que el genoma de PCV2 también se pudo detectar en el 63% de los cerdos control procedentes de granjas control.

Puesto que PCV2 juega un papel principal en el desarrollo del PMWS, los datos epidemiológicos del estudio caso-control también perfilan la asociación de un posible papel del PCV2 en PDNS tales como:

- a) es común, encontrar signos de PDNS en cerdos con PMWS en la misma granja,
- b) el PDNS acontece en granjas que habían sufrido previamente brotes de PMWS,
- c) en la mayoría de las granjas caso de PDNS examinadas aparece PMWS al mismo tiempo o se observan cerdos con PMWS en el mismo periodo en que acontece. Además,
- d) también hay asociaciones entre el PMWS y PDNS tales como cambios linfoides (ganglios agrandados y



## INTERACCIONES ENTRE PRRS Y OTRAS ENFERMEDADES RESPIRATORIAS: LA INTERACCIÓN DE PRRS Y PCV2 EN PMWS Y PDNS

- hemorrágicos), presencia de células sincitiales, y neumonía intersticial,
- e) ha habido una asociación temporal clara con PMWS y PDNS ya que se ha registrado un aumento en los casos de PDNS paralelo al de casos de PMWS.

Estas asociaciones epidemiológicas entre PMWS y PDNS, la detección de ADN de PCV2 en el 100% de los cerdos afectados por PDNS y los títulos de anticuerpos frente a PCV2 extremadamente altos en dichos animales apoyan la hipótesis de que este virus es un agente esencial en el desarrollo de PDNS.

Los antígenos víricos de PCV2 no se detectaron en los depósitos pero sí en las células similares a los macrófagos de acuerdo con Choi y Chae el ADN de PCV2 también se podría detectar en células tubulares renales. Nuestros resultados de PCR también apoyan la presencia de ADN de PCV2 en riñones de cerdos afectados por PDNS, pero la carga vírica es restringida comparándola con la encontrada en cerdos afectados por PMWS. Los antígenos víricos no se encuentran necesariamente en depósitos de inmunocomplejos encontrados en las enfermedades víricas. Esto se ha descrito en la enfermedad del visón aleutiano, causada por el virus ADV, pero también en otras infecciones víricas que producen desórdenes inmunológicos.

El hecho de que histopatológicamente aparezca glomerulonefritis y vasculitis sugiere que un desorden sistémico immune complejo probablemente en combinación con, aunque menos, respuestas inmunes celulares. La presencia de altos títulos de anticuerpos frente a PCV2 en casos de PDNS sugiere la hipótesis de una hipersensibilidad tipo III.

Este estudio promueve el desarrollo de diagnóstico diferencial de cerdos con PDNS y cerdos infectados con peste porcina clásica, puesto que los signos clínicos del PDNS se pueden confundir con los síntomas de dicha enfermedad. Sin embargo, el papel del PCV2 en la patogénesis debe ser clarificado y se deben de cumplir los postulados de Koch para establecer el PCV2 como un agente etiológico primario de PDNS.

### **Infecciones experimentales**

Este estudio muestra que los cerdos SPF, infectados solo con PCV2, pueden desarrollar la mayoría de la clínica y las lesiones descritas para PMWS, aunque los cambios histopatológicos en los ganglios linfáticos fueron en general más moderados que los descritos en PMWS en condiciones naturales.

Se observó depleción linfocitaria ocasionalmente en el tejido linfático, pero sin infiltración de células gigantes multinucleadas.

Los animales SPF infectados simultáneamente con PCV2+PPV, o PCV2+PRRSV-EU desarrollaron clínica y lesiones más graves que los animales SPF infectados solo con PCV2.

La mayoría de los cerdos murieron en el grupo infectado con PCV + PRRSV-EU y la depleción linfocitaria fue más grave en este grupo.

Este estudio también demostró que el desarrollo de las lesiones histopatológicas en cerdos infectados por PCV2 pueden estar influidas por el cofactor vírico.

El distress respiratorio y la neumonía intersticial fueron graves en el grupo infectado por PCV2+PRRSV-EU, mientras que los datos de estudios anteriores mostraron que la clínica y lesiones histopatológicas fueron tan solo moderadas en cerdos infectados por PRRSV-EU solamente.

Se obtuvieron datos relevantes del grupo PCV2 +ICFA en el que se produjo una reducción de la clínica y lesiones patológicas comparando con aquellas encontradas en otros grupos infectados por PCV2.

En otros estudios, los eventos inmunomoduladores se consideraron como esenciales para el desarrollo del síndrome.

Por tanto, debemos realizar más investigación para indagar el efecto del ICFA sobre el curso de las infecciones por PCV2.

En el grupo de PCV2 + vacunación frente a *M.hyo* la clínica y lesiones histopatológicas no fueron más graves que las encontradas en cerdos infectados solo por PCV2.

En resumen este estudio mostró que los cerdos SPF en combinación con la cepa holandesa de PCV2 se pueden usar como un modelo experimental para estudios de PCV2/PMWS.

### **REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

ANIMAL HEALTH SERVICE PO Box 9, 7400 AB Deventer, The Netherlands m.djong@gdvdieren.nl

INSTITUTE FOR ANIMAL SCIENCE AND HEALTH (ID-LELYSTAD), PO Box 65, 8200 AB Lelystad, The Netherlands