

PRIMER REPORTE EN VENEZUELA DEL SÍNDROME DE EMACIACIÓN MULTISISTÉMICO POST-DESTETE PORCINO

Postweaning Multisystemic Wasting Swine Syndrome,
First Report in Venezuela

Elías J. Sogbe M.^{*1}, Joaquín Segalés^{**}, Vitelio Utrera^{*}, Carmen T. Díaz^{*},
Jean P. Cano^{*}, Carolina Rodríguez-Cariño^{*}, Gabriela Rodríguez-Arrijoja^{**},
Elías Ascanio^{*} y Héctor Zerpa^{*}

**Departamento de Patología Veterinaria. Facultad de Ciencias
Veterinarias. Universidad Central de Venezuela, Apartado. 4563.
Maracay 2101. Estado Aragua. Venezuela. **Dpt. Sanitat i Anatomia
Animals, **Universitat Autònoma de Barcelona, España*

Correo-E: elsoma@net-uno.net

Recibido: 25/09/03 - Aprobado: 18/03/04

RESUMEN

En años recientes el Síndrome Multisistémico de Emaciación Post Destete Porcino (PMWS) ha tenido importancia en la industria porcina en muchos países, particularmente en Canadá, Europa, Estados Unidos de América, Asia y Sur América. El síndrome afecta cerdos jóvenes, principalmente entre 6 y 14 semanas de edad. El PMWS está caracterizado por emaciación, neumonía, diarrea, ictericia y aumento de volumen de los linfonódulos. El síndrome ha sido asociado con un circovirus porcino tipo 2 (PCV2) y, simultáneamente pueden ocurrir otras enfermedades: parvovirus porcino, virus del síndrome respiratorio y reproductivo porcino (PRRS), etc. El diagnóstico del PMWS se basa en la edad de los cerdos afectados, la típica apariencia de emaciación, hallazgos de necropsia,

ABSTRACT

In recent years Post Weaning Multisystemic Wasting Syndrome has become of significant concern in the swine industry in many countries, particularly Canada, United States of America, Europe, Asia and South America. The syndrome affects pigs mainly between 6 and 14 weeks of age. It is characterized by wasting, pneumonia, diarrhea, jaundice and enlarged lymph nodes. The syndrome has been associated with a porcine circovirus type 2 (PCV2) and simultaneous infections with porcine parvovirus (PPV), porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRS) etc. The diagnosis of PMWS syndrome is based on the age of affected pigs, typical wasting appearance and necropsy lesions, histopathologic study and in situ hybridization (ISH) of affected tissues, showing the presence of PCV2 by HIS

¹ A quien debe dirigirse la correspondencia (Corresponding Author).

histopatológicos, y exámenes de Hibridación *in situ* (HIS) en tejidos que revelan la presencia de PCV2. El presente estudio se realizó en 12 lechones de 8 a 12 semanas de edad, ubicados en 3 granjas porcinas de estados centrales de Venezuela (Aragua/Carabobo). Los lechones presentaban signos de consunción, palidez generalizada, disnea, diarrea e hipertrofia de linfonódulos superficiales inguinales. A la necropsia se evidenció neumonía con pulmones no colapsables e incremento de tamaño de linfonódulos inguinales, mesentéricos y traqueobronquiales; mientras en la histopatología se evidenció depleción linfoide con pérdida de la arquitectura folicular en linfonódulos, bazo y placas de Peyer, con presencia de infiltración histiocitaria, células sincitiales y corpúsculos intensamente basófilos intracitoplasmáticos en histiocitos, lo cual es altamente sugestivo de PMWS. Adicionalmente se procesaron muestras de estos mismos tejidos mediante una técnica de HIS, que permitió demostrar la presencia de PCV2 en los tejidos linfoides afectados y confirmar el diagnóstico de PMWS. Esta es la primera descripción de esta entidad patológica en Venezuela.

(Palabras clave: Cerdo, circoviridae, trastornos nutricionales, período postdestete, diagnóstico, Aragua, Carabobo.)

INTRODUCCIÓN

El circovirus porcino tipo 2 (PCV2) es considerado el agente etiológico del Síndrome de Emaciación Multisistémico Postdestete en Porcinos (PMWS) (Kennedy *et al.*, 1998; Bolin *et al.*, 2001; Harms *et al.*, 2001; Bolin y Allan, 2002; Harding y Halbur, 2002; Segalés y Domingo, 2002). En años recientes ha tenido una

particular importancia y se ha manifestado como una enfermedad emergente en la industria porcina. Desde que fueron descritos los primeros casos en Canadá en 1999 (Allan y Ellis, 2000), el síndrome ha sido reportado en la mayoría de los países productores de cerdos en el mundo, incluyendo Europa, Asia y América (Ciacci-Zanella *et al.*, 2002; Clark, 1997; methods. The present study was performed in 12 piglets between 8 and 12 weeks of age, located in 3 porcine farms from Central States of Venezuelan (Aragua/Carabobo). The pigs showed signs of consumption, pallor, dispnea, diarrhea, and enlarged superficial inguinal lymph nodes. At necropsy there was evidence of pneumonia with non-collapsible lungs as well as inguinal, mesenteric and tracheobronchial lymph nodes enlargement. The histopathology study showed lymphoid depletion, with loss of follicles architecture in lymph nodes, spleen, and Peyer's patches, histiocytic infiltration, syncytial cells and basophilic cytoplasmic inclusions in histiocytic cells. The findings described are suggestive of PMWS. The same tissues specimen were processed by a technique of IHS and revealed the presence of PCV2 in the affected lymphoid tissues to confirm the diagnosis of PMWS. This is the first description of the syndrome in Venezuela.

(Key Words: Swine, circoviridae, nutritional disorders, postweaning period, diagnosis, Aragua, Carabobo.)

particular importancia y se ha manifestado como una enfermedad emergente en la industria porcina. Desde que fueron descritos los primeros casos en Canadá en 1999 (Allan y Ellis, 2000), el síndrome ha sido reportado en la mayoría de los países productores de cerdos en el mundo, incluyendo Europa, Asia y América (Ciacci-Zanella *et al.*, 2002; Clark, 1997;

Kennedy *et al.*, 1998; Madec *et al.*, 2000; Segalés y Domingo, 2002). Así mismo, pueden ser diagnosticadas otras enfermedades o infecciones en las granjas concomitantemente con PMWS (Allan *et al.*, 1999, Drolet *et al.*, 1999; Kennedy *et al.*, 2000; Madec y Waddilove, 2002), entre las cuales se menciona el Síndrome Respiratorio y Reproductivo Porcino (PRRS) (Allan *et al.*, 1999; Harms *et al.*, 2001; Rovira *et al.*, 2002) y Parvovirus (Allan *et al.*, 1999).

El CVP2 es un virus no envuelto, icosaédrico, de cadena sencilla de ADN (Bolin y Allan, 2002; Bolin *et al.*, 2001; Rossel *et al.*, 1999; Sorden, 2000). Este virus de la familia Circoviridae es muy parecido al Circovirus Porcino Tipo I, por lo que, al diferenciarlo genéticamente, se clasificó como Circovirus Porcino tipo II (CVP2).

La presencia de PMWS en Venezuela se sospechaba desde hace dos años, no obstante no había sido comprobada su existencia.

El propósito del presente estudio fue caracterizar histológicamente las lesiones tisulares presentes y comprobar por el método de hibridación in situ (HIS), doce casos clínicamente sugestivos de PMWS en tres granjas porcinas ubicadas en los Estados Centrales del país.

MATERIALES Y MÉTODOS

La metodología que se empleó para la evaluación diagnóstica de los animales, estuvo basada en la demostración de lesiones histológicas características en cerdos con signos clínicos compatibles con PMWS y, en los órganos descritos, evidenciar la presencia consistente de PCV2 a través de la técnica de HIS (Sorden, 2000).

Se evaluaron tres granjas porcinas (sin relación alguna) localizadas en Estados Centrales de Venezuela, Aragua y Carabobo, se estudiaron doce lechones de 8 a 12 semanas de edad quienes presentaron hallazgos clínicos y criterios para el estudio (Rossel *et al.*, 1999; Sorden, 2000): emaciación, palidez, disnea, hipertrofia de linfonódulos inguinales y eventualmente diarrea (Tabla 1). A los animales afectados se les practicó la necropsia y se les tomaron muestras para histopatología, particularmente de pulmón, linfonódulos inguinales, mesentéricos y traqueo-bronquiales, además de bazo, hígado y riñón; el resto de los órganos no presentaron lesiones aparentes. Las muestras obtenidas se fijaron en formalina tamponada al 10% y posteriormente procesadas por el método de inclusión en parafina para la obtención de secciones histológicas de 4 a 5 μm , las cuales fueron teñidas con la coloración de Hematoxilina y Eosina. Las mismas muestras de tejidos se utilizaron para realizar la técnica de HIS en ruta de determinar la presencia de PCV2 (Rossel *et al.*, 1999), se procesaron en el Departamento de Anatomía Patológica de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad Autónoma de Barcelona, España.

La técnica de hibridación in situ empleada consistió en: a partir de bloques de parafina, se realizaron secciones de tejidos de 3 a 4 μm , luego se colocaron en un equipo HYBrite Denaturation/Hybridization System for FISH® de hibridación in situ; las preparaciones incluidas en un cestillo se desparafinan e hidratan en soluciones de etanol en concentraciones decrecientes. Se procedió a la digestión con 0.3% de pepsina e incubó por 5 minutos a 105°C, hibridándose para CVP2 con una sonda de ADN de 40 nucleótidos marcada con digoxina; pri-

mero se incubó durante 5 minutos a 105°C (prehibridación) y luego a 37°C por 60 minutos. Se lavó con citrato de sodio para garantizar el acoplamiento entre el ácido nucleico blanco y el ADN de la sonda. Después se aplicó un anticuerpo antigoxina conjugado (fosfatasa alcalina). Se colocó una tinción reveladora con tetrasolium nitroblue, hace insoluble la reacción tiñendo de azulnegruzco las mismas; los tejidos fueron contrastados finalmente con Fast Green durante 10 a 12 minutos, se lavó con agua destilada varias veces, se deshidrató en soluciones crecientes de alcoholes y xiloles, se montaron con cubreobjetos y se evaluaron en el microscopio Nikon Labophot trinocular (Rossel et al., 1999; Rossel et al., 2000).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Estudio clínico

Los signos clínicos observados fueron coincidentes con los señalados para PMWS en la literatura (Segalés et al., 1997; Kennedy et al., 1998; Allan et al., 1999; Rossel et al., 1999; Madec et al., 2000; Bolin et al., 2001; Harms et al., 2001; Ciacci-Zanella et al., 2002; Segalés y Clark, 2002), donde destacan:

emaciación, retardo en el crecimiento, disnea, aumento de tamaño linfonódulos superficiales inguinales y diarrea (Tabla 1). Ninguno de los lechones presentó lesiones hemorrágicas de piel ni de riñón como las descritas para el Síndrome de Dermatitis y Nefropatía Porcina, que ha sido reportado en la literatura asociado a PMWS (Sierra et al., 1997; Drolet et al., 1999; Machuca et al., 1999; Harding y Halbur, 2002).

Estudio de necropsia

En la necropsia se evidenció aumento de volumen o hipertrofia de los linfonódulos inguinales superficiales, mesentéricos y traqueobronquiales, los pulmones se presentaban no colapsables, de consistencia gomosa y elástica (Tabla 2).

Estudio histopatológico

El estudio microscópico reveló, en los pulmones, neumonía intersticial de grado variable (leve, moderada, severa) con severa congestión capilar (Figura 1). Los órganos linfoides mostraron depleción linfoide severa en linfonódulos, bazo y placas de Peyer, con marcado infiltrado histiocitario (Figuras 2 y 3), cuerpos de inclusión esféricos basófilos en el citoplasma de los macrófagos (Figura 4) y pre-

Tabla 1. Hallazgos clínicos en 12 porcinos afectados por el Síndrome de Emaciación Multisistémico Postdestete

Signos clínicos	Número
Emaciación / pobre condición corporal	11
Disnea	9
Palidez	8
Diarrea	4

Tabla 2. Hallazgos macroscópicos en 12 porcinos afectados por el Síndrome de Emaciación Multisistémico Postdestete

Lesiones Macroscópicas	
Neumonía + pulmones no colapsables	11
Hipertrofia de linfonódulos inguinales superficiales	10
Hipertrofia de linfonódulos mesentéricos	5
Hipertrofia de linfonódulos traqueo bronquiales	4

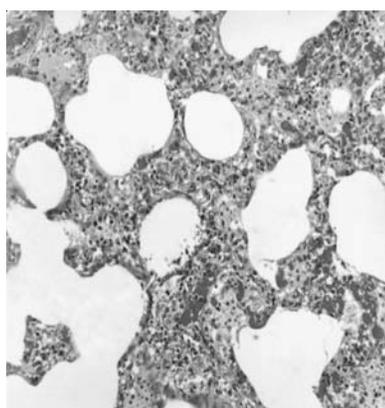


Figura 1. Micrografía de pulmón: neumonía intersticial crónica severa. Nótese el infiltrado inflamatorio mononuclear ocupando los septos alveolares, con múltiples focos de congestión vascular. H&e 155x.

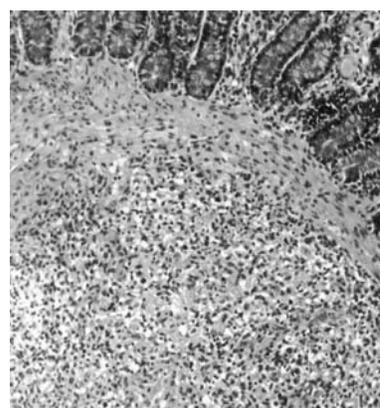


Figura 2. Micrografía de intestino delgado (ileon), placa de Peyer: muestra con marcada depleción linfocítica e infiltrado histiocitario. H&e 155x.

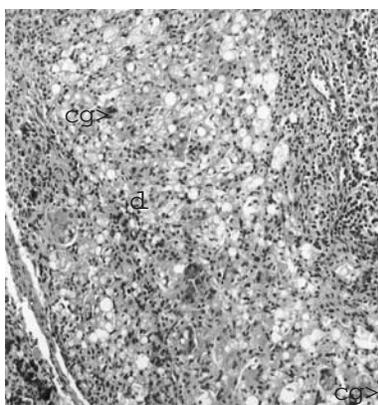


Figura 3. Micrografía de intestino delgado (ileon), placa de Peyer: otro campo donde se observa pérdida de la arquitectura normal del órgano, depleción linfocítica (dl) y célula gigante multinucleada (cg). H&e 155x.

sencia de células sincitiales (Figura 5). En uno de los casos se apreció leve nefritis intersticial mononuclear con presencia de células sincitiales.

Hibridación in situ (HIS)

Tres de los casos fueron sometidos a la

técnica de HIS y en todos ellos se evidenció moderado a marcado incremento de ácidos nucleicos de circovirus porcino tipo 2 (PCV2) (Figura 6), en asociación con las lesiones microscópicas encontradas en tejidos linfoides (Tabla 3).

CONCLUSIONES

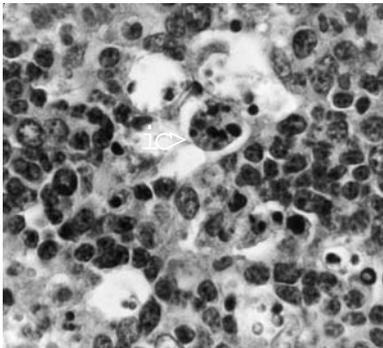


Figura 4. Micrografía de intestino, placa de Peyer, detalle a mayor aumento que ilustra la presencia de cuerpos de inclusión esféricos, fuertemente basofílicos en el citoplasma de histiocitos (ic). H&e 640x.

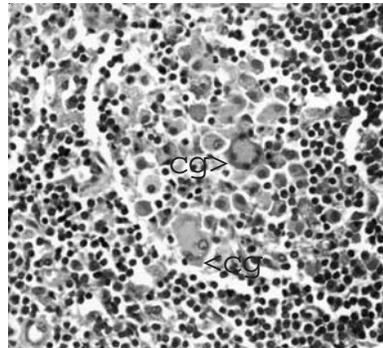


Figura 5. Micrografía de linfonódulo inguinal superficial. Presencia de células sincitiales ocupando el centro de folículos linfoides, obsérvese células de gran tamaño (cg). H&e 320x.

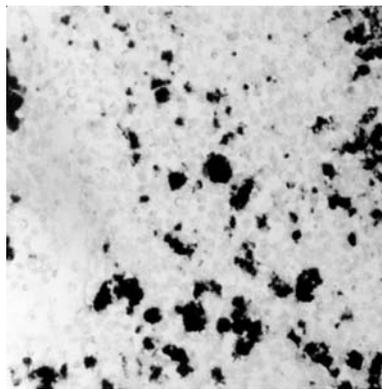


Figura 6. Micrografía de linfonódulo inguinal superficial: marcada positividad para ácidos nucleicos de PCV2; corresponde a la misma sección histológica de la figura 4. Contraste fast green. His 320x.

Tabla 3. Hallazgos histopatológicos en 12 porcinos afectados por el Síndrome de Emaciación Multisistémico Postdestete

N ^o
Lesiones Microscópicas
Depleción Linfoide de linfonódulos inguinales superficiales
Neumonía intersticial crónica
Infiltración histiocitaria en órganos linfoides
Células Sincitiales
Corpúsculos de inclusión intracitoplasmáticos en

Los aspectos clínicos, histopatológicos y de HIS permiten confirmar por primera vez la presencia de PMWS en granjas porcinas venezolanas, esta patología se manifestó con caracteres similares a los señalados por investigadores en otras latitudes, cumpliendo con lo establecido en los criterios básicos para realizar el diagnóstico final: 1) Presencia de cuadro clínico, 2) Lesiones histopatológicas características y 3) detección de PCV2 en los tejidos de los cerdos afectados (Segalés *et al.*, 1997; Rossel *et al.*, 1999; Allan y Ellis, 2000; Kennedy *et al.*, 2000; Madec *et al.*, 2000; Rossel *et al.*, 2000; Rovira *et al.*, 2002; Segalés y Clark, 2002; Segalés y Domingo, 2002).

Los signos clínicos más frecuentes fueron emaciación, disnea y palidez. Las lesiones histopatológicas descritas como típicas pueden no encontrarse todas en un solo caso, pero en conjunto permiten realizar el diagnóstico, por ello es oportuno recomendar que deben seleccionarse adecuadamente los tejidos de los cerdos afectados a ser remitidos, por lo cual es prefe-

rible enviar el lechón completo al laboratorio de Anatomía Patológica. La presencia de PCV2 por HIS permitió confirmar el diagnóstico y su presencia guarda estrecha relación con la intensidad del daño tisular linfoide.

REFERENCIAS

- Allan, G.M. and Ellis, J.A. 2000. Porcine circoviruses: a review. *J. Vet. Diagn. Invest.* 12:3-14.
- Allan, G.M.; Kennedy, S.; McNeilly, F.; Foster, J.C.; Ellis, J.A.; Krakowka, S.J.; Meehan, B.M. and Adair, B.M. 1999. Experimental reproduction of severe wasting disease by coinfection of pigs with porcine Circovirus and porcine parvovirus. *J. Comp. Pathol.* 121:1-11.
- Bolin, S.R. and Allan, G.M. 2002. Old virus or new virus- In a world continuous changes. En: PMWS and PCV2 diseases Beyond the debate. Merial. 17th. IPVS Congress. Ames. Iowa. USA. pp. 9-17.

- Bolin, S.R.; Stoffregen, W.C.; Nayar, G.P.S. and Hamel, A.L. 2001. Postweaning Multisystemic Wasting Syndrome induce after experimental inoculation of cesarean-derived, colostrums deprived piglets with type 2 porcine circovirus. *J. Vet. Diagn. Invest.* 13:185-194.
- Ciacchi-Zanella, J.R.; Zanella, E.L. and Morés, N. 2002. Postweaning multisystemic wasting syndrome in Brazil caused by porcine Circovirus type 2. En: Proceedings of 17th. IPVS Congress. Iowa State University. Ames. Iowa. USA. 2:422.
- Clark, E.G. 1997. Post-weaning multisystemic wasting syndrome. En: Proceeding of the 28th. *American Association of Swine Practitioners.* pp. 499-501.
- Drolet, R.; Thibault, S.; D'allaire, S.; Thompson, J.R. and Done, S.H. 1999. Porcine dermatitis and nephropathy syndrome (PDNS). En: An overview of the disease. *Swine Health and Production*, 7:283-285.
- Harding, J.C. and Halbur, P.G. 2002. PMWS or a group of PCV2 - associated syndromes: ever - growing concerns. En: PMWS and PCV2 diseases Beyond the debate. Merial. 17th. IPVS Congress. Ames. Iowa. USA. pp. 19-31.
- Harms, P.A.; Sorden, S.D.; Halbur, P.G.; Bolin, S.R.; Lager, K.M.; Morozov, J. and Paul, P.S. 2001. Experimental reproduction of severe disease in CD/CD pigs concurrently infected with type 2 porcine circovirus and porcine reproductive and respiratory syndrome virus. *Vet. Pathol.* 38:528-539.
- Kennedy, S.; Allan, G.M.; McNeilly, F.; Adair, B.M.; Hughes, A. and Spillane, P. 1968. Porcine Circovirus infection in Northern Ireland. *Vet. Rec.* 142:195-196.
- Kennedy, S.; Moffett, D.; Mcneilly, F.; Meehan, B.; Ellis, J.; Krakowka, S. and Allan, G.M. 2000. Reproduction of lesions of postweaning multisystemic syndrome by infection of conventional pigs with porcine circovirus type 2 alone or in combination with porcine parvovirus. *J. Comp. Pathol.* 122: 9-24.
- Madec, F. and Waddilove, J. 2002. Control PCV2 or other factors?, several approaches to a complex problem. En: PMWS and PCV2 diseases Beyond the debate. Merial. 17th. IPVS Congress. Ames. Iowa. USA. pp. 45-53.
- Madec, F.; Eveno, E.; Morvan, P.; Hamon, L.; Blanchard, P.; Cariolet, R.; Amenna, N.; Morvan, H.; Truong, C.; Mahe, D.; Albina, E. and Jestin, A. 2000. Post-weaning multisystemic wasting syndrome (PMWS) in pigs in France: Clinical observations from follow-up studies on affected farms. *Livest. Prod. Sci.* 63:223-233.
- Machuca, M.; Segalés, J.; Idiart, J.; Sanguinetti, H. y Perfumo, C.J. 1999. Síndrome de dermatitis y nefropatía porcina en la República de Argentina: patología y detección de circovirus porcino. *Rev. Med. Vet.* 81:337-339.
- Rossel, C.; Segalés, J.; Plana-Durán, H.; Rodríguez-Arrijoja, G.; Kennedy, S.; Allan, G.; Mcneilly, F.; Latimer, K. and Domingo, M. 1999. Pathological immunohistochemical and in situ hybridization studies of natural cases of post-weaning multisystemic wasting syndrome (PMWS) in pigs. *J. Comp. Pathol.* 120:59-78.
- Rossel, C.; Segalés, J.; Plana-Durán, J.; Balasch, M.; Rodriguez-Arrijoja, G.M.; Kennedy, S.; Allan, G.M.; McNeilly, F.; Latimer, K.S. and Domingo, M. 2000. Identification of porcine Circovirus in tissues of pigs with

- porcine dermatitis and nephropathy syndrome. *Vét. Rec.* 146: 40-3.
- Rovira, A.; Balasch, M.; Segalés, J.; Garcia, L.; Plana-Durán, J.; Rosell, C.; Ellerbrok, H.; Mankertz, A. and Domingo, M. 2002. Experimental inoculation of conventional pigs with porcine reproductive and respiratory syndrome virus and porcine circovirus 2. Centre de Recerca en Sanitat Animal (CRESA), Departament de Sanitat i d'Anatomia Animals, Universitat Autònoma de Barcelona, Barcelona, Spain. *J. Virol.* 76: 3232-3239.
- Segalés, J. and Clark, E.G. 2002. Immunostimulation and immunosuppression: two faces of the same coin In: PMWS and PCV2 diseases Beyond the debate. Merial. 17th. IPVS Congress. Ames. Iowa. USA. pp. 33-43.
- Segalés, J. and Domingo, M. 2002. Porcine Circovirus type 2 infection: postweaning multisystemic wasting syndrome and other condition. En: Proceedings of 17th. IPVS Congress. Iowa State University. Ames. Iowa. USA. 1:35-43.
- Segalés, J.; Sitjar, M.; Domingo, M.; Dee, S.; Del Pozo, M.; Noval, R.; Sacristán, C.; De Las Heras, A.; Ferro, A. and Latimer, K.S. 1997. First report of post-weaning multisystemic wasting syndrome in pigs in Spain. *Vét. Rec.* 141: 600-601.
- Sierra, M.A.; De Las Mulas, J.M.; Molenbeek, R.F.; Van Manen, C.; Vos, J.H.; Quezada, M. and Bruys, E. 1997. Porcine immune complex glomerulonephritis dermatitis (PIGD) syndrome. *Eur. Vét. Pathol.* 3: 63-70.
- Sorden, S.D. 2000. Update on porcine circovirus and postweaning multisystemic wasting syndrome (PMWS). *Swine health and production.* May and June, Vol 8: 133-136.

