



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MÉXICO
PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO EN CIENCIAS
AGROPECUARIAS Y RECURSOS NATURALES

**“HALLAZGOS HISTOPATOLÓGICOS E IMPLICACIÓN
DEL PCV2, P_oRV Y PRRSV EN LECHONES CON
DESMEDRO DE GRANJAS DE MÉXICO”**

TESIS

Que para obtener el título de

**Maestra en Ciencias Agropecuarias
y Recursos Naturales**

Presenta:

AIDE ALPÍZAR PÉREZ

Director de Tesis:

PhD. Raúl Cuauhtémoc Fajardo Muñoz

Tutores Adjuntos:

**Dr. José Simón Martínez Castañeda
M. en C. Atalo Cándido Martínez Lara**

Diciembre, 2015

“HALLAZGOS HISTOPATOLÓGICOS E IMPLICACIÓN DEL PCV2, PoRV Y PRRSV EN LECHONES CON DESMEDRO DE GRANJAS DE MÉXICO”

**“HALLAZGOS HISTOPATOLÓGICOS E IMPLICACIÓN DEL PCV2,
PoRV Y PRRSV EN LECHONES CON DESMEDRO DE GRANJAS DE
MÉXICO”**

“HALLAZGOS HISTOPATOLÓGICOS E IMPLICACIÓN DEL PCV2, PoRV Y PRRSV EN LECHONES CON DESMEDRO DE GRANJAS DE MÉXICO”

DEDICATORIAS

A Berny y Petita por ser dueños de mi vida y de todo mi amor...

A Quim, por todo el tiempo dedicado, por los consejos, comentarios y ayuda para realizar este trabajo, por la invaluable amistad que me brindaste... simplemente por haberte conocido...

A mis amigos: Guille, por tu amistad, por hacer los días tan agradables, por cada momento que vivimos juntos.... Jorge, por escucharme siempre y por apoyarme en todo lo que he necesitado...

A mis familiares y amigos con todo cariño...

“HALLAZGOS HISTOPATOLÓGICOS E IMPLICACIÓN DEL PCV2, PoRV Y PRRSV EN LECHONES CON DESMEDRO DE GRANJAS DE MÉXICO”

AGRADECIMIENTOS

A CONACyT por el financiamiento otorgado para la realización de mis estudios de maestría y el apoyo para la realización de una estancia de movilidad internacional.

A la Universidad Autónoma del Estado de México por el apoyo otorgado para realizar mis estudios de posgrado y financiamiento parcial para una estancia en el extranjero.

Al proyecto: “Identificación y caracterización de variantes genéticas y antigénicas del rubulavirus porcino; y caracterización de sus parámetros histopatológicos e inmunológicos”, No. de Proyecto SIGI: 19144832016 por el financiamiento para la realización de este trabajo.

A mi Tutor Académico Dr. Raul Fajardo, por brindarme todos los conocimientos, la confianza y las facilidades para realizar mis estudios de posgrado.

A mis Tutores Adjuntos Atalo Martínez Lara y J. Simón Martínez Castañeda, por las aportaciones y consejos para la realización de este trabajo.

A Marina Sibila Vidal, por ser mi supervisora durante la estancia en el CReSA y por brindarme todos los conocimientos y ayuda profesional y personal. A Eva Huerta y Mónica Pérez por su hospitalidad, amabilidad, paciencia y enseñanza en el CReSA, sin dudarle, fueron parte del aprendizaje adquirido.

Al Centre de Recerca en Sanitat Animal (CReSA), IRTA-UAB, Barcelona, España, por brindarme la oportunidad de realizar una estancia de investigación, por permitirme conocer y utilizar sus instalaciones para aprender diversas técnicas de laboratorio.

**“HALLAZGOS HISTOPATOLÓGICOS E IMPLICACIÓN DEL PCV2, PoRV Y
PRRSV EN LECHONES CON DESMEDRO DE GRANJAS DE MÉXICO”**

ÍNDICE

	PAGINA
DEDICATORIAS.....	iii
AGRADECIMIENTOS.....	iv
ÍNDICE.....	v
ÍNDICE DE FIGURAS Y TABLAS.....	vii
RESUMEN.....	viii
ABSTRACT.....	ix
I. INTRODUCCIÓN.....	1
II. REVISIÓN DE LITERATURA.....	3
1 PORCICULTURA.....	3
1.1 Situación e importancia internacional.....	3
1.2 Situación e importancia nacional.....	4
2 DESMEDRO EN LECHONES POSDESTETE Y EN ENGORDE.....	5
3 CIRCOVIROSIS PORCINA.....	7
3.1 Etiología.....	11
3.2 Epidemiología.....	10
3.3 Patogénesis.....	10
4 ENFERMEDAD DEL OJO AZUL.....	12
4.1 Etiología.....	12
4.2 Epidemiología.....	13
4.3 Patogénesis.....	13
5 SINDROME REPRODUCTIVO Y RESPIRATORIO PORCINO.....	16
5.1 Etiología.....	17
5.2 Epidemiología.....	17
5.3 Patogénesis.....	18
III. JUSTIFICACIÓN.....	19
IV. HIPÓTESIS.....	20

“HALLAZGOS HISTOPATOLÓGICOS E IMPLICACIÓN DEL PCV2, PoRV Y PRRSV EN LECHONES CON DESMEDRO DE GRANJAS DE MÉXICO”

V. OBJETIVOS	21
VI. MATERIAL Y MÉTODOS	22
VII. LÍMITE DE TIEMPO.....	26
VIII. RESULTADOS	27
IX. DISCUSIÓN.....	49
X. CONCLUSIONES	52
XI. SUGERENCIAS	53
XI. REFERENCIAS	54

**“HALLAZGOS HISTOPATOLÓGICOS E IMPLICACIÓN DEL PCV2, PoRV Y
PRRSV EN LECHONES CON DESMEDRO DE GRANJAS DE MÉXICO”**

ÍNDICE DE CUADROS Y FIGURAS

	Página
TABLAS	
Tabla 1. Lesiones macroscópicas y microscópicas presentes en las diferentes enfermedades relacionadas a PCV2.....	8
Tabla 2 Diagnósticos morfológicos y PCR convencional de lechones con desmedro.	40
Tabla 3. Lesiones histopatológicas observadas en los lechones con desmedro.	42
Tabla 4. Frecuencia de detección de virus mediante PCR/RT-PCR a partir de homogenados de órganos de los lechones con desmedro.....	48
 FIGURAS	
Figura 1. Producción de carne de cerdo a nivel mundial.....	3
Figura 2. Neumonías intersticiales	43
Figura 3. Depleción linfoide de nódulos linfoides.	44
Figura 4. Inflamación granulomatosa.....	45
Figura 5. Células gigantes multinucleadas.....	46
Figura 6. Lechón con CP, lesiones histopatológicas de los nódulos linfáticos	47

“HALLAZGOS HISTOPATOLÓGICOS E IMPLICACIÓN DEL PCV2, PoRV Y PRRSV EN LECHONES CON DESMEDRO DE GRANJAS DE MÉXICO”

RESUMEN

Alpizar PA¹, Martínez CJS¹, Martínez LA², Fajardo MR¹

1Centro de Investigación y Estudios Avanzados en Salud Animal (CIESA), Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia (FMVZ), Universidad Autónoma del Estado de México (UAEM). Carretera Toluca-Atlacomulco Km. 15.5. CP. 50200. Toluca, México.

2Centro Nacional de Investigación Disciplinaria Microbiología (CENID Microbiología), Instituto Nacional de Investigaciones Forestales Agrícolas y Pecuarias (INIFAP). Carretera federal México-Toluca km 15.5, Col. Palo Alto México D.F. C.P. 05110.

El desmedro en lechones postdestete es una problemática en las explotaciones porcinas a nivel mundial; aproximadamente el 10% de los animales presentan esta condición patológica y se asocia a múltiples etiologías. Las enfermedades víricas más importantes que ocasionan desmedro son la circovirus porcina (CP), el síndrome reproductivo y respiratorio porcino (PRRS) y la enfermedad del ojo azul (EOA). Estos procesos provocan grandes pérdidas económicas y predisponen a diversas infecciones concomitantes. En México, la asociación del desmedro con la CP, el PRRS y la EOA en los lechones postdestete no está bien descrita y el grado de participación y/o sinergismo entre estos patógenos no está definido. El objetivo de este trabajo fue identificar las lesiones y la implicación del circovirus porcino tipo 2 (PCV2), virus del PRRS (PRRSV) y rubulavirus porcino (PoRV) en lechones con desmedro. Se realizaron 37 necropsias de cerdos de la zona del Bajío de México afectados con desmedro. Histopatológicamente, se observó principalmente neumonía intersticial en 25/37 lechones (68%) y depleción linfocitaria en grado variable en órganos linfoides de 14/37 animales (38%), de los cuales 4/37 casos mostraron linfadenitis granulomatosa. A través de PCR y/o RT-PCR se detectaron 16/37 casos positivos a PCV2, 18/37 a PRRSV y 1/37 a PoRV y en la inmunohistoquímica para PCV2 1/37 lechones fue positivo. Los resultados demuestran que la infección o co-infección por PRRSV y PCV2 es un hallazgo frecuente en lechones con desmedro en México.

Palabras clave: lechones, desmedro, histopatología, PCV2, PRRSV, PoRV.

“HALLAZGOS HISTOPATOLÓGICOS E IMPLICACIÓN DEL PCV2, PoRV Y PRRSV EN LECHONES CON DESMEDRO DE GRANJAS DE MÉXICO”
ABSTRACT

Alpizar PA1, Martínez CJS1, Martínez LA2, Fajardo MR1

1Centro de Investigación y Estudios Avanzados en Salud Animal (CIESA), Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia (FMVZ), Universidad Autónoma del Estado de México (UAEM). Carretera Toluca-Atlacomulco Km. 15.5. CP. 50200. Toluca, México.

2Centro Nacional de Investigación Disciplinaria Microbiología (CENID Microbiología), Instituto Nacional de Investigaciones Forestales Agrícolas y Pecuarias (INIFAP). Carretera federal México-Toluca km 15.5, Col. Palo Alto México D.F. C.P. 05110.

Wasting of post-weaning piglets is a problem of global pig farming. The most important viral diseases that cause wasting in Mexico are porcine circovirus type 2-systemic disease (PCV2-SD), porcine reproductive and respiratory syndrome (PRRS) and blue eye disease (BED). These infections cause large economic losses and predispose to various concomitant infections. The objective of this work was to identify microscopic lesions and involvement of PCV2, PRRS virus (PRRSV) and porcine rubulavirus (PoRV) in emaciated piglets. Thirty-seven necropsies of pigs with poor body condition were performed in the Bajío region of Mexico. Histopathologically, interstitial pneumonia was observed in 25/37 (68%) of the piglets. Also, a varying degree of lymphocyte depletion in lymphoid organs was found in 14/37 (38%) animals, and 4 of them showed granulomatous lymphadenitis. Through PCR and/or RT-PCR, 16/37 were positive for PCV2, 18/37 for PRRSV and 1/37 for PoRV. By immunohistochemistry to detect PCV2 antigen, 1/37 piglets were positive. Obtained results demonstrate that infection or co-infection with PRRSV and PCV2 is a common finding in piglets with poor body condition in Mexico.

Keywords: piglets, detriment, histopathological, porcine circovirus type 2, porcine reproductive and respiratory syndrome virus, porcine rubulavirus.

“HALLAZGOS HISTOPATOLÓGICOS E IMPLICACIÓN DEL PCV2, PoRV Y PRRSV EN LECHONES CON DESMEDRO DE GRANJAS DE MÉXICO”

I. INTRODUCCIÓN

Actualmente el retraso de crecimiento en lechones destetados y de engorda es un problema importante que afecta la producción porcina tanto como a nivel mundial como en México, se estima que al menos 1 de cada 10 lechones de cada explotación porcina presenta esta condición patológica (García CAC *et al.*, 2008). El término desmedro no implica un diagnóstico en sí mismo sino que es un término clínico para describir una condición corporal caracterizada por retraso del crecimiento y generalmente es de origen multifactorial. Entre estos factores se pueden destacar múltiples agentes microbianos, y efectos medioambientales, nutricionales y de manejo. En muchas ocasiones la existencia de desmedro se ha confundido con el síndrome multisistémico del desmedro posdestete (SMDP), del cual el circovirus porcino tipo 2 (PCV2) es el agente causal esencial. No obstante, cabe recordar que el SMDP, también llamado circovirus porcino (CP), es una enfermedad específica causada por el agente mencionado (Segalés J. 2012), mientras que el desmedro es una condición corporal con múltiples causas potenciales. Además de la CP, entre las enfermedades virales más importantes a nivel mundial que producen retraso del crecimiento en los cerdos postdestete están el síndrome respiratorio y reproductivo porcino (PRRS) (Meng XJ, 2012) y la enfermedad del ojo azul (EOA) (presente exclusivamente en México) (Kirkland PD *et al.*, 2012). Estas enfermedades provocan grandes pérdidas económicas y predisponen al desarrollo de infecciones concomitantes como *Streptococcus suis* tipo II, *Haemophilus parasuis*, *Actinobacillus pleuropneumoniae*, *Mycoplasma hyopneumoniae*, *Pasterella multocida*, entre otros (Segalés J *et al.*, 2005, Opriessnig T *et al.*, 2012). En México, la situación epidemiológica y etiológica del retraso de crecimiento en los lechones no está bien definida, se ha asociado principalmente a agentes virales (PCV2, PRRSV y PoRv) pero su nivel de participación y/o sinergismo no está bien definido.

“HALLAZGOS HISTOPATOLÓGICOS E IMPLICACIÓN DEL PCV2, PoRV Y PRRSV EN LECHONES CON DESMEDRO DE GRANJAS DE MÉXICO”

Es por ello que el objetivo de este trabajo fue identificar las lesiones y la implicación de PCV2, PRRSV y PoRV en lechones con retraso del crecimiento de granjas de la zona del Bajío de México.

“HALLAZGOS HISTOPATOLÓGICOS E IMPLICACIÓN DEL PCV2, PoRV Y PRRSV EN LECHONES CON DESMEDRO DE GRANJAS DE MÉXICO”

II. REVISIÓN DE LITERATURA

1. PORCICULTURA

1.1 Situación e importancia internacional

La carne roja de mayor consumo mundial es la carne de cerdo y su demanda en las últimas décadas ha experimentado un fuerte incremento, es el subsector pecuario de mayor crecimiento, junto con el avícola. La producción porcina está distribuida por todo el mundo, con exclusión de algunas regiones que mantienen reservas culturales y religiosas en relación al consumo de carne de cerdo. Después de la crisis porcina a nivel mundial (caída del consumo y de la producción) la carne de cerdo se encuentra en los niveles de inventarios más bajos de los últimos años. El país mayor productor de carne de cerdo es China, seguido de Estados Unidos, Alemania y España (Cabello VMA, Torres GE, 2010).

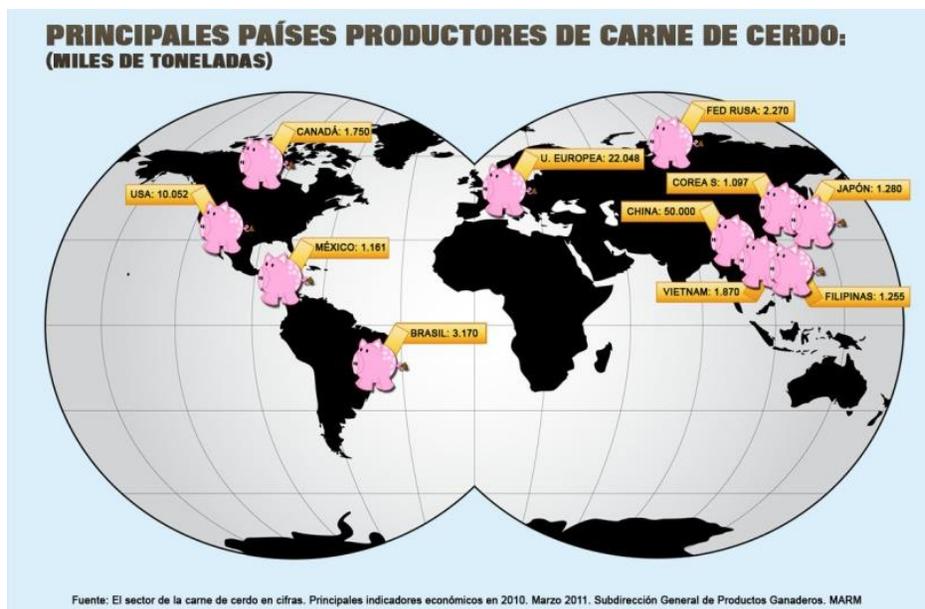


Figura 1. Producción de carne de cerdo a nivel mundial.

En el 2010, China que es el mayor productor y consumidor del mundo dejó de ser autosuficiente, con lo que abrió un nuevo mercado para los países exportadores. Europa,

“HALLAZGOS HISTOPATOLÓGICOS E IMPLICACIÓN DEL PCV2, PoRV Y PRRSV EN LECHONES CON DESMEDRO DE GRANJAS DE MÉXICO”

continúa siendo el segundo mayor mercado pero su nivel de consumo de carne de puerco no se ha recuperado, se espera un incremento en los siguientes años. Las cifras publicadas por el USDA referentes a la producción porcina registran un crecimiento tanto en el número de cabezas de ganado como en el volumen de carne de porcino a nivel mundial (Cabello VMA, Torres GE, 2010).

1.2 Situación e importancia nacional

La porcicultura en México es una actividad económicamente importante, existe una población estimada de 15 millones de cerdos, esta aporta 1.2 toneladas de carne con un valor de 26 mil millones de pesos (SAGARPA, 2012) y ocupa el segundo lugar en producción cárnica del país, la cual proviene principalmente de siete estados de la república, los cuales son: Jalisco, Sonora, Guanajuato, Puebla, Yucatán, Veracruz y Michoacán. Los estados de Michoacán, Guanajuato, Jalisco y Veracruz aportan el 38% al inventario porcícola nacional (SAGARPA, 2012).

La producción de carne de cerdo mexicana en los últimos años ha crecido en promedio 1.6%, en 2012 alcanzó más de un 1, 200,000 toneladas. México exporta anualmente 71,000 toneladas de carne, en los próximos años puede crecer a más de 100,000, sobre todo aprovechando los acuerdos comerciales con Japón, China, EU, Perú y Colombia (SAGARPA, 2012).

En las últimas dos décadas, han surgido importantes enfermedades virales en la población porcina mundial. Algunos, como el síndrome reproductivo y respiratorio porcino (PRRS) y la circovirus porcina (CP) que ocasionan grandes pérdidas económica (Meng XJ, 2012). En México estas dos enfermedades virales son de gran importancia (Heneidi A, 2011), aunado a que en la región del Bajío existe la enfermedad del ojo azul, la cual, también se relaciona con desmedro en los lechones y ha sido una gran limitante para las exportaciones de esta región.

“HALLAZGOS HISTOPATOLÓGICOS E IMPLICACIÓN DEL PCV2, PoRV Y PRRSV EN LECHONES CON DESMEDRO DE GRANJAS DE MÉXICO”

2. DESMEDRO EN LECHONES POSDESTETE Y EN ENGORDE

El desmedro en lechones destetados y de engorda es un problema significativo que afecta la producción porcina; de hecho, anteriormente, el 2% de lechones con bajo peso al destete era lo normal, fue considerado y aceptado como la variación mínima natural y no se tomaron medidas para corregir esta situación. En la actualidad, se estima que al menos 1 de cada 10 lechones de cada explotación presenta esta condición patológica (García CAC *et al.*, 2008). Estos lechones de bajo peso no pueden recuperarse si son alimentados con la misma dieta que el resto de los cerdos. Anteriormente, la dieta para los cerdos pequeños se basaba en más de alimento, lo cual, no sirvió para solucionar esta problemática. Al día de hoy, se utilizan “alimentos especiales” para tratar de recuperar estos “lechones especiales” (García CAC *et al.*, 2008), sin embargo, esta medida no ha funcionado totalmente, ya que sigue persistiendo la problemática del desmedro en las granjas.

El término desmedro no implica un diagnóstico en sí mismo sino que es un término clínico para describir una condición corporal caracterizada por retraso del crecimiento y que generalmente es de origen multifactorial. Entre estos factores se pueden destacar múltiples agentes microbianos, y efectos medioambientales, nutricionales y de manejo. En muchas ocasiones la existencia de desmedro se ha confundido con el síndrome multisistémico del desmedro posdestete (SMDP), del cual circovirus porcino tipo 2 (PCV2) es el agente causal esencial. No obstante, cabe recordar que el SMDP, también llamado circovirosis porcina (CP), es una enfermedad específica causada por el agente mencionado (Segalés J. 2012), mientras que el desmedro es una condición corporal con múltiples causas potenciales. Además de la CP, entre las enfermedades virales más importantes a nivel mundial que producen retraso de crecimiento en los cerdos postdestete están el PRRS (Meng XJ, 2012) y la enfermedad del ojo azul (presente exclusivamente en México) (Kirkland PD *et al.*, 2012). Estas enfermedades provocan grandes pérdidas económicas y predisponen al desarrollo de infecciones concomitantes como *Streptococcus suis* tipo II, *Haemophilus parasuis*, *Actinobacillus*

“HALLAZGOS HISTOPATOLÓGICOS E IMPLICACIÓN DEL PCV2, PoRV Y PRRSV EN LECHONES CON DESMEDRO DE GRANJAS DE MÉXICO”

pleuropneumoniae, *Mycoplasma hyopneumoniae*, *Pasterella multocida*, entre otros (Segalés J *et al.*, 2005, Opriessnig T *et al.*, 2012).

Recientemente se ha detectado otra enfermedad, que cursa con retraso de crecimiento en los lechones recién destetados llamado síndrome del fallo del desarrollo peridestete (peri-weaning failure-to-thrive syndrome", PFTS), descrito por primera vez en Canadá en el 2008, pero hasta el 2010 se describieron varios casos en Estados Unidos y Canadá (Huang Y *et al.*, 2012) y se describió como: “Lechón de una granja sin enfermedades clínicas obvias en lechones lactantes o grupo de lechones clínicamente normales, sin fiebre, con comportamiento y condición corporal normales en el momento del destete y sin evidencias de enfermedades respiratorias, digestivas o sistémicas; que en los 7 primeros días post destete no está comiendo, está deprimido, también puede mostrar un comportamiento anormal de morder o masticar al aire y se debilita progresivamente en 2-3 semanas” (Huang Y *et al.*, 2012).

“HALLAZGOS HISTOPATOLÓGICOS E IMPLICACIÓN DEL PCV2, PoRV Y PRRSV EN LECHONES CON DESMEDRO DE GRANJAS DE MÉXICO”

3. CIRCOVIROSIS PORCINA

La circovirus porcina (CP) es una enfermedad relativamente reciente producida por el circovirus porcino (PCV2), descrita por primera vez en Canadá por John Harding y Edward Clark en 1996, aunque se reportó que la infección por el PCV2 ya estaba presente en cerdos desde 1962 en Alemania y la enfermedad desde mediados de los 80 en Europa (Segalés J *et al*, 2005).

El PCV2 está asociado al desarrollo de diversos síndromes clínicos y lesiones, incluyendo la CP, el síndrome de dermatitis y nefropatía porcina (PDNS) y la enfermedad reproductiva asociada a PCV2; también se ha asociado a la participación de problemas entéricos y respiratorios (Tabla 1) (Chae C, 2004, Segalés J, 2005).

“HALLAZGOS HISTOPATOLÓGICOS E IMPLICACIÓN DEL PCV2, PoRV Y PRRSV EN LECHONES CON DESMEDRO DE GRANJAS DE MÉXICO”

Tabla 1. Lesiones macroscópicas y microscópicas presentes en los diferentes síndromes relacionados a PCV2.

Agente	Lesiones macroscópicas	Lesiones microscópicas
Infección subclínica (PCV2 -SI)	Ninguna	Ninguna o depleción linfoide ligera con inflamación granulomatosa
PCV2 Enfermedad Sistémica (PCV2-SD) o PMWS	Pelaje largo áspero, columna vertebral prominente y cabeza de gran tamaño, relativamente Agrandamiento de ganglios linfáticos Falta de colapso pulmonar	Depleción linfoide con infiltración granulomatosa (cuerpos de inclusión intracitoplasmáticos) Neumonía intersticial /granulomatosa; fibroplasia peribronquiolar, bronquiolitis necrotizante leve a severa y / o neumonía proliferativa necrotizante
PCV2 Enfermedad pulmonar (PCV2-LD)	Carencia de colapso pulmonar y pulmones moteados	Neumonía bronquiolointersticial granulomatosa con o sin bronquiolitis y fibrosis bronquiolar
PCV2 Enfermedad entérica (PCV2-ED)	Enteritis catarral con o sin edema mesentérico. Agrandamiento de nódulos mesentéricos	Enteritis granulomatosa Depleción linfoide con infiltración granulomatosa en placas de Peyer
PCV2 Enfermedad reproductiva (PCV2-RD)	Momificación fetal o fetos edematosos Congestión hepática fetal Hipertrofia cardíaca fetal	Miocarditis necrótica o fibrótica no supurativa Congestión hepática Neumonía
Síndrome de dermatitis y nefropatía porcina (PDNS)	Máculas rojas o moradas multifocales coalescentes en perineo hasta parte distal de miembros posteriores. Riñones agrandado, corteza pálida, hemorragias focales circulares (2-4mm) Linfadenomegalia renal e inguinal y rojizos	Vasculitis necrótica en dermis y subcutis. Glomerulitis fibrinonecrótica y exudativa Nefritis intersticial Nefritis intersticial fibrosa crónica con glomeruloesclerosis Depleción linfoide con infiltración granulomatosa

Modificado de Segalés J, 2012.

La CP se considera una enfermedad multifactorial que afecta a lechones posdestete y de engorde, la principal forma de presentación de la enfermedad es el síndrome multisistémico de desmedro posdestete (PMWS), en los lechones afectados se observa principalmente retraso de crecimiento con morbilidad variable y elevada mortalidad (Segalés J, 2012).

“HALLAZGOS HISTOPATOLÓGICOS E IMPLICACIÓN DEL PCV2, PoRV Y PRRSV EN LECHONES CON DESMEDRO DE GRANJAS DE MÉXICO”

Los primeros reportes del síndrome del desmedro multisistémico postdestete (PMWS) se publicaron en Canadá (Harding, 1996; Clark, 1996) y pocas personas esperaban la amplia expansión de la enfermedad y además, que ocurriera en todo el mundo. Después se informaron casos en Europa (Segalés *et al.*, 2005) y la enfermedad se presentó en casi todos los países de producción de cerdos a nivel mundial.

Los signos clínicos y la mayoría de las lesiones macroscópicas en los cerdos afectados no eran específicos de la enfermedad y algunos casos podían atribuirse a otros patógenos conocidos, comúnmente aislados de cerdos. También, se observó que los cerdos post-destete y crecimiento eran afectados severamente (Allan GM, Ellis JA, 2000). El agente causal identificado en los tejidos afectados en las investigaciones de laboratorio reveló un PCV2, especialmente en los tejidos linfoides.

3.1 ETIOLOGÍA

La CP es causada por el PCV2, un virus ADN pequeño y muy resistente al medio ambiente y desinfectantes, de 12-23 nm de diámetro, sin envoltura externa, icosaédrico, cadena simple y muy estable; este virus del género Circovirus pertenece a la familia Circoviridae (Hamel AL *et al.*, 1998, Allan GM, Ellis JA, 2000). El PCV2 se detectó a finales de 1990 (Clark, 1996; Harding, 1996) y es un virus específico de los porcinos que puede infectar tanto a cerdos como a jabalíes. Se ha investigado la capacidad del virus para infectar a otras especies pero no se ha demostrado susceptibilidad al virus. El PCV2 es un virus específico de suinos e infecta a cerdos y jabalíes (Segalés J. *et al.*, 2005). Este virus es un agente ubicuo y se considera como el agente necesario pero no suficiente para desencadenar la CP; su expresión clínica requiere, además de la infección por PCV2, la concomitancia de factores de tipo infeccioso y no infeccioso (Chae C, 2004, Segalés J, *et al.*, 2005, Grau-Roma L, *et al.*, 2012).

“HALLAZGOS HISTOPATOLÓGICOS E IMPLICACIÓN DEL PCV2, PoRV Y PRRSV EN LECHONES CON DESMEDRO DE GRANJAS DE MÉXICO”

3.2 EPIDEMIOLOGÍA

La transmisión es horizontal (vía oronasal) aunque también se puede transmitir verticalmente (trasplacentaria). Las cerdas mantienen la infección en las granjas y a partir de ellas, los lechones se infectan; estos pueden sufrir una infección de larga duración, con viremia hasta las 28 semanas. El virus tiene elevada resistencia ambiental y elevada capacidad de transmisión, por lo que, es un virus ubicuo persistente, prácticamente está presente en todas las partes donde se crían cerdos (Segalés J, 2012).

3.3 PATOGENESIS

Esta enfermedad afecta a cerdos de 6 a 16 semanas de edad, con un cuadro clínico subagudo a crónico, moderada morbilidad (4-20%) y letalidad elevada (50-80%). Se caracteriza por retraso del crecimiento y pérdida de vitalidad, pelaje largo y áspero, columna vertebral prominente, e incremento de tamaño de los nódulos linfáticos (Segalés J. *et al.*, 2002, Chae C, 2004).

La CP puede presentarse en cerdos prenatalmente en diferentes etapas del desarrollo embrionario, fetal y postnatal a diferentes edades, lo cual, se expresa de diferentes formas de enfermedad (Segalés *et al.*, 2005). Aunque, las células embrionarias son susceptibles, los embriones son resistentes a la infección (siempre y cuando no entren en la zona pelúcida). Después de la eclosión, los embriones pueden infectarse y la infección de las células embrionarias parece ser el resultado de una ausencia del mecanismo de defensa en los embriones. La amplia replicación de virus provoca la muerte y resorción de los embriones en el útero y la cerda volverá al estro (Mateusen *et al.*, 2007). En fetos de 40 a 70 días de gestación, el virus se reproduce principalmente en el corazón, seguido del hígado, órganos linfoides y pulmones. Las principales células diana en esa etapa son los cardiomiocitos, hepatocitos y células de la línea monocítica (MO) (Sánchez *et al.*, 2003) y puede haber momificación fetal por las lesiones cardiacas (Pensaert *et al.*, 2004). En etapas

“HALLAZGOS HISTOPATOLÓGICOS E IMPLICACIÓN DEL PCV2, PoRV Y PRRSV EN LECHONES CON DESMEDRO DE GRANJAS DE MÉXICO”

posteriores del desarrollo fetal, la replicación viral disminuye considerablemente debido a la presencia de una respuesta inmune humoral adaptativa en cerdos de 70 días de gestación aunado a la reducción de la tasa mitótica durante el progreso de la gestación.

Postnatalmente, PCV2 pierde su tropismo por células del corazón e infecta principalmente linfoblastos y MO. En contraste, los linfoblastos son objetivos totalmente susceptibles (Sánchez *et al.*, 2004; Lefebvre *et al.*, 2008b).

Las lesiones microscópicas características de la CP se encuentran en órganos linfoides, y se caracterizan por depleción linfocitaria con inflamación granulomatosa, presencia de células gigantes multinucleadas y se pueden observar cuerpos de inclusión basofílicos intracitoplasmáticos. Frecuentemente, los animales afectados sufren también neumonía intersticial, y muy ocasionalmente fibroplasia peribronquiolar, bronquiolitis necrotizante leve a grave y/o neumonía proliferativa necrotizante (Chae C, 2004, Segalés J, 2012).

“HALLAZGOS HISTOPATOLÓGICOS E IMPLICACIÓN DEL PCV2, PoRV Y PRRSV EN LECHONES CON DESMEDRO DE GRANJAS DE MÉXICO”

4. ENFERMEDAD DEL OJO AZUL

En las últimas décadas la Enfermedad del Ojo Azul (EOA) en México ha sido una de las enfermedades más importantes de los cerdos desde el punto de vista económico. En 1998, se realizó un muestreo a nivel nacional, donde 71 (3.9 %) sueros de 1,800 fueron positivos a la EOA, de los cuales algunos provenían de Guanajuato y Michoacán, entre otros estados (Correa *et al.* 1998). En el 2011 Martínez y col. reportaron una prevalencia del 28% a la EOA en la región de La Piedad, Michoacán y otros estados del sureste fueron negativos, por lo que, es evidente que la presencia del virus está en aumento. De acuerdo a esto la EOA todavía es un problema de salud en los estados de centro occidente (Guanajuato, Michoacán y Jalisco).

La enfermedad del ojo azul es una enfermedad que se observó por primera vez en La Piedad, Michoacán, México y en los estados vecinos de Jalisco y Guanajuato en 1980 y se caracterizó por la presencia de encefalitis y enfermedad respiratoria en los lechones, fallas reproductivas en los cerdos adultos y, ocasionalmente, opacidad corneal en cerdos de todas las edades (Stephano HA *et al.*, 1988).

4.1 ETIOLOGÍA

La enfermedad es causada por el rubulavirus porcino (PoRV), también denominado paramixovirus de La Piedad, Michoacán (PVLPM). Este virus, fue aislado por primera vez en México a comienzos de la década de 1980 (Stephano HA *et al.*, 1988), pertenece al género Rubulavirus de la familia Paramyxoviridae, cuyo genoma es de ARN de cadena sencilla (Rima B *et al.*, 1995), que afecta en forma natural solo a los cerdos. En los lechones el virus ocasiona trastornos respiratorios y nerviosos, en los mayores de un mes produce signos respiratorios, y en los verracos y cerdas gestantes causa trastornos reproductivos. Los cerdos son la única especie hospedadora conocida (Kirkland PD *et al.*, 2012).

“HALLAZGOS HISTOPATOLÓGICOS E IMPLICACIÓN DEL PCV2, PoRV Y PRRSV EN LECHONES CON DESMEDRO DE GRANJAS DE MÉXICO”

Aunque solo se han informado casos de enfermedad del ojo azul en México, se han encontrado paramixovirus porcinos estrechamente relacionados en otros países tales como Australia, Canadá, Japón e Israel.

4.2 EPIDEMIOLOGÍA

Las infecciones parecen propagarse por vía respiratoria principalmente. Se ha encontrado el virus en cantidades considerables en la orina. La transmisión vertical ocurre en útero. En los estudios experimentales, los síntomas aparecen a los 3 o 5 días después de la inoculación intranasal de los lechones (Kirkland PD *et al.*, 2012).

4.3 PATOGÉNESIS

En cerdos lactantes de 2 a 21 días de vida, la enfermedad del ojo azul se caracterizó por encefalitis, neumonía y opacidad corneal (Stephano HA *et al.*, 1988). Por lo general, la enfermedad empieza con aparición repentina de fiebre, lomo arqueado y postración o depresión. Estos síntomas siguen a enfermedad neurológica progresiva con debilidad, ataxia, temblores musculares, postura anormal y rigidez, especialmente de las patas traseras (Sánchez-Betancour JI *et al.*, 2008). Algunos lechones se muestran hiperexcitables. Entre 1 y 10% de los lechones desarrollan opacidad corneal unilateral o bilateral, que suele remitir de manera espontánea. Otros síntomas pueden incluir conjuntivitis, ceguera aparente, nistagmo, constipación y diarrea. Con frecuencia los lechones afectados mueren. Los primeros lechones generalmente mueren dentro de las 48 horas de la aparición de los signos clínicos, posteriormente, se observan muertes después de 4 a 6 días de la enfermedad (Santos G *et al.*, 2004).

Los cerdos destetados de más de 30 días de vida suelen mostrar síntomas moderados y transitorios que pueden incluir anorexia, fiebre, tos, estornudos y, ocasionalmente, opacidad corneal. Los síntomas neurológicos son poco comunes, pero se puede observar depresión ocasional, ataxia, marcha en círculos u oscilación de la cabeza. En establecimientos con

“HALLAZGOS HISTOPATOLÓGICOS E IMPLICACIÓN DEL PCV2, PoRV Y PRRSV EN LECHONES CON DESMEDRO DE GRANJAS DE MÉXICO”

manejos deficientes, se ha registrado un síndrome que consiste en síntomas neurológicos graves con un índice de mortalidad del 20% en cerdos de engorde de 15 a 45 kilos (Sánchez-Betancour JI *et al.*, 2008).

En los cerdos adultos se observan fallas reproductivas. Los síntomas incluyen una disminución en las tasas de concepción, abortos, aumento de mortinatos y fetos momificados en las cerdas, y epididimitis, orquitis y baja calidad espermática en los machos. Además, algunos animales pueden presentar opacidad corneal o anorexia leve (Kirkland PD *et al.*, 2012).

Las lesiones típicas en los cerdos lactantes son la neumonía intersticial y la encefalomiелitis no supurativa. Las lesiones macroscópicas pueden incluir síntomas de neumonía leve (especialmente en los vértices ventrales de los lóbulos pulmonares craneales), congestión cerebral, y conjuntivitis y quemosis en los ojos. Se puede observar distensión leve del estómago con leche y de la vejiga urinaria con orina. Algunas veces la cavidad peritoneal contiene una pequeña cantidad de líquido con fibrina. Las lesiones histopatológicas incluyen: encefalomiелitis no supurativa; la materia gris del tálamo, el mesencéfalo y la corteza cerebral, resultan afectadas con mayor frecuencia. Los pulmones pueden contener áreas dispersas de neumonía intersticial, con engrosamiento de los septos e infiltración por células mononucleares. También se ha registrado tonsilitis leve (Kirkland PD *et al.*, 2012).

La lesión principal encontrada durante la necropsia de cerdos infectados de manera experimental es epidídimo-orquitis grave. Se pueden atrofiar los testículos. Los cambios histopatológicos en la epididimitis pueden incluir granulomas espermáticos y degeneración vacuolar del epitelio ductal, asociados con la infiltración por células mononucleares y la fibroplasia intersticial. En los testículos, se puede observar degeneración de los túbulos seminíferos e infiltrado intersticial por células mononucleares (Kirkland PD *et al.*, 2012).

Las lesiones registradas en cerdas infectadas de manera experimental incluyeron hemorragias y congestión focal en la placenta y el endometrio. Los fetos aparecen, deshidratados,

“HALLAZGOS HISTOPATOLÓGICOS E IMPLICACIÓN DEL PCV2, PoRV Y PRRSV EN LECHONES CON DESMEDRO DE GRANJAS DE MÉXICO”

momificados o con un tamaño inferior al normal con equimosis cutánea. Aparecen fetos anormales y normales mezclados al azar.

En las explotaciones comerciales de cría, se suele notar la enfermedad primero en las unidades de parición, donde un número elevado de lechones jóvenes puede morir de encefalitis. Por lo general, entre el 20 y 60% de las camadas resultan afectadas. El índice total de morbilidad en los lechones es del 20 al 50% y el índice de mortalidad es de aproximadamente el 90%; no obstante, la gravedad de los síntomas varía según la edad de los animales. Aunque se pueden producir casos de enfermedad grave en lechones de hasta 21 días de vida, los animales con menos de 15 días de vida son más susceptibles. En un experimento, todos los cerdos de 3 días de vida se encontraban muertos o moribundos después a una semana de la inoculación, pero sólo el 30% de los cerdos de 17 días de vida se enfermaron.

En los animales de mayor edad, el sistema inmunitario aparentemente elimina el virus. En la mayoría de las granjas, el índice de morbilidad en los lechones destetados (más de 20 días de vida) es de 1 a 4% aproximadamente. El índice de mortalidad en este grupo suele ser bajo. Sin embargo, en granjas con sistemas de manejo deficientes, se han registrado síntomas neurológicos graves con un índice de mortalidad del 20% en cerdos de engorde de 15 a 45 kilos. En los animales adultos, los únicos síntomas fueron fallas reproductivas y, ocasionalmente, opacidad corneal. La disminución en la tasa de concepción suele durar de 6 a 8 meses.

“HALLAZGOS HISTOPATOLÓGICOS E IMPLICACIÓN DEL PCV2, PoRV Y PRRSV EN LECHONES CON DESMEDRO DE GRANJAS DE MÉXICO”

5. SÍNDROME REPRODUCTIVO Y RESPIRATORIO PORCINO

El síndrome reproductivo y respiratorio porcino (PRRS) es causado por un arterivirus, el virus PRRS (PRRSV) (King AMQ *et al.*, 2012). Se han identificado dos genotipos de PRRSV: (1) Europeo o genotipo tipo 1 (PRRSV-1), cuyo prototipo es Lelystadvirus (LV); y (2) Norteamericano o genotipo tipo 2 (PRRSV-2), cuyo prototipo es el ATC2332 cepa de referencia. Se han reportado diferencias significativas antigénicas y patogénicas significativos en la cepa Norteamericana (Stadejek T *et al.*, 2006, Darwich L *et al.*, 2011).

Principalmente, se caracteriza por: fallas en la reproducción de cerdas: abortos y nacidos muertos, trastornos respiratorios en lechones y cerdos en crecimiento. Se conocen 3 formas clínicas: aguda o reproductiva, crónica o respiratoria y subclínica. Aunque la infección con PRRSV puede ser subclínica, la enfermedad clínica se hace evidente cuando las infecciones secundarias están presentes. Así, PRRSV contribuye al complejo respiratorio porcino enfermedad (CRP) (Gómez-Laguna J *et al.*, 2013).

En 1996, se informó de la aparición de brotes de enfermedades causadas por cepas atípicas o HP-PRRSV en los EE.UU. Estos brotes se caracterizaron por el aumento de abortos (10-50%), mortalidad de las cerdas (5-10%) y la mortalidad pre-destete, debido principalmente a las enfermedades respiratorias. Las cepas HP-PRRSV se han aislado en China y el Sudeste Asiático (Xiao S *et al.*, 2010). La infección con cepas HP-PRRSV se asocia con graves signos clínicos, lesiones pulmonares y las respuestas inmunitarias aberrantes del huésped (Xiao S *et al.*, 2010, Hu *et al.*, 2012).

Desde la aparición del PRRS en México en 1992, el virus se diseminó por todas las granjas porcícolas del país. Se estima que el 100% de las granjas comerciales del país están contaminadas con este virus (Heneidi A, 2011).

“HALLAZGOS HISTOPATOLÓGICOS E IMPLICACIÓN DEL PCV2, PoRV Y PRRSV EN LECHONES CON DESMEDRO DE GRANJAS DE MÉXICO”

5.1 ETIOLOGIA

El virus del síndrome reproductivo y respiratorio porcino (PRRSV) es miembro del género arterivirus, familia Arteriviridae (Halbur PG *et al.*, 1998). Su genoma es una molécula de ARN poliadenilado de cadena sencilla con polaridad positiva. El tamaño del genoma es de aproximadamente 15 kb (15,088 pares de bases) que contiene ocho marcos de lectura abiertos (ORFs). La proteína de la nucleocápside es codificada por ORF 7 y está altamente conservada entre ambos genotipos (Norteamérica y Europa) (Stadejek T *et al.*, 2006, Darwich L *et al.*, 2011).

5.2 EPIDEMIOLOGÍA

El PRRSV se encuentra diseminado por todo el mundo. Desde su aparición en México en 1992, PRRSV se diseminó por todo el país y actualmente solo quedan algunas regiones libres de este patógeno. Algunos estudios serológicos realizados en regiones de México que demuestran una alta seroprevalencia del PRRSV en el país (Sierra N *et al.*, 2000).

En 2006, una cepa altamente patógena del PRRS (HP-PRRS) fue reportada por primera vez en China y se ha extendido rápidamente (Xiao S *et al.*, 2010, Hu *et al.*, 2012). La cepa HP-PRRS ha sido reportada recientemente en Vietnam, Laos, Camboya, Myanmar (Birmania), Filipinas y Rusia. La HP-PRRS se propaga muy rápidamente a través de la población de cerdos y provoca una mortalidad del 100% en los cerdos jóvenes, lo cual se traduce en importantes pérdidas económicas. Una cepa altamente patógena de PRRSV fue aislada de las granjas porcinas que sufren la enfermedad. El análisis del genoma reveló que la cepa altamente patógena PRRSV fue significativamente diferente de cualquier aislado identificado anteriormente. Los brotes a gran escala de HP-PRRS en China han causado y siguen causando cuantiosas pérdidas económicas para la industria porcina (Hu *et al.*, 2012).

“HALLAZGOS HISTOPATOLÓGICOS E IMPLICACIÓN DEL PCV2, PoRV Y PRRSV EN LECHONES CON DESMEDRO DE GRANJAS DE MÉXICO”

5.3 PATOGÉNESIS

El PRRS se caracteriza por fallas en la reproducción de cerdas (abortos y nacidos muertos) y trastornos respiratorios en los lechones y cerdos en engorde. Se conocen 3 formas clínicas: aguda o reproductiva, crónica o respiratoria y subclínica (Gómez-Laguna J *et al.*, 2013). La forma respiratoria se caracteriza por inapetencia, conjuntivitis y estornudos, aunada a un posible retraso en el crecimiento (Wagner AK *et al.*, 2011). Los macrófagos son las células diana del PRRSV. La patogénesis de la infección por PRRSV en los cerdos empieza por la entrada del virus a través de las tonsilas, sigue por difusión en los macrófagos pulmonares y los nódulos linfáticos, generando viremia. Las lesiones histopatológicas presentes principalmente son neumonías intersticiales, hiperplasia linfoide de los centros germinales y en algunos casos se puede presentar depleción linfoide (descrito en las cepas Norteamericanas) y en ocasiones se puede observar miocarditis, rinitis y vasculitis (Wagner AK *et al.*, 2011, Gómez-Laguna J *et al.*, 2013). Desde la aparición de PRRS en México en 1992, el virus se diseminó por granjas porcinas del país y se estima que actualmente la mayoría de las granjas comerciales del país están infectadas con este virus (Heneidi A, 2011).

“HALLAZGOS HISTOPATOLÓGICOS E IMPLICACIÓN DEL PCV2, PoRV Y PRRSV EN LECHONES CON DESMEDRO DE GRANJAS DE MÉXICO”

III. JUSTIFICACIÓN

El desmedro en lechones es una condición patológica que está asociado a una gran cantidad de factores y enfermedades entre estas las más importantes son la circovirus porcina y el síndrome reproductivo y respiratorio porcino.

En México, la infección por el Rubulavirus Porcino (PoRV), que causa la Enfermedad del Ojo Azul, sigue latente en el país y también, se ha relacionado con el desmedro en lechones, sin embargo, no hay estudios que describan como se comporta la enfermedad actualmente.

No existen estudios etiológicos ni epidemiológicos en México sobre esta condición patológica. Por lo que, es necesario investigar la implicación del PCV2, PRRSV y PoRV en las granjas de México.

“HALLAZGOS HISTOPATOLÓGICOS E IMPLICACIÓN DEL PCV2, PoRV Y PRRSV EN LECHONES CON DESMEDRO DE GRANJAS DE MÉXICO”

IV. HIPÓTESIS

Existe una coinfección entre el PCV2, PoRV y PRRSV en los lechones con desmedro de las granjas de la región del Bajío de México.

“HALLAZGOS HISTOPATOLÓGICOS E IMPLICACIÓN DEL PCV2, PoRV Y PRRSV EN LECHONES CON DESMEDRO DE GRANJAS DE MÉXICO”

V. OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

- Identificar la presencia de PCV2, PoRV y PRRSV y los hallazgos histopatológicos en los lechones con desmedro en las granjas muestreadas de la región del Bajío en México.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Identificar los lechones con desmedro.
- Describir las alteraciones histopatológicas de los lechones con desmedro.
- Identificar al PCV2, PoRV y PRRSV en los lechones con desmedro.
- Correlacionar los hallazgos histopatológicos con la presencia del PCV2, PoRV y PRRSV en los lechones con desmedro.

“HALLAZGOS HISTOPATOLÓGICOS E IMPLICACIÓN DEL PCV2, PoRV Y PRRSV EN LECHONES CON DESMEDRO DE GRANJAS DE MÉXICO”

VI. MATERIAL Y MÉTODO

Se realizó un estudio epidemiológico descriptivo, prospectivo y transversal, utilizando estadística descriptiva, realizando medidas de tendencia central.

Se realizó un muestreo por conveniencia (no aleatorio) en 22 explotaciones porcinas de la zona del bajío de los estados de Jalisco, Michoacán y Guanajuato. Se realizaron 37 necropsias de cerdos (1-3 lechones/granja) de acuerdo a la *Norma Oficial Mexicana NOM-033-ZOO-1995 (sacrificio humanitario de los animales domésticos y silvestres)*. Los criterios de inclusión fueron lechones de 6-16 semanas de edad, con retraso del crecimiento marcado y con condición corporal de grado 1 o 2 (Ramírez A, Karkiker LA, 2012). Se tomaron muestras de tejidos de pulmón, nódulos linfáticos, bazo, tonsila y cerebro para realizar análisis histopatológicos, de PCR e inmunohistoquímica.

6.1 Análisis histopatológico

Todos los tejidos fueron examinados al microscopio fotónico y se les dio una puntuación subjetiva para la gravedad de las lesiones pulmonares y de los nódulos linfáticos.

Para las lesiones pulmonares intersticiales se utilizó la siguiente (Halbur *et al.*, 1995):

0 (normal)

1 (neumonía intersticial leve)

2 (neumonía intersticial moderada multifocal)

3 (neumonía intersticial moderada difusa).

4 (neumonía intersticial severa).

Para la graduación de las lesiones de los nódulos linfáticos se realizó de acuerdo a la depleción linfoide y la infiltración granulomatosa, utilizando la graduación de GrauRoma L y col. (2009), de la siguiente manera:

“HALLAZGOS HISTOPATOLÓGICOS E IMPLICACIÓN DEL PCV2, PoRV Y PRRSV EN LECHONES CON DESMEDRO DE GRANJAS DE MÉXICO”

Depleción linfoide

- 0 Ausencia
- 1 Pérdida de folículos linfoides, menos del 25%
- 2 Pérdida de folículos linfoides, 25-75%
- 3 Pérdida de folículos linfoides, 75%
- 4 Pérdida total de folículos linfoides.

Infiltración granulomatosa

- 0 Ausencia
- 1 Infiltración leve y focal o multifocal en menos del 25%
- 2 Infiltración multifocal del 25-75%
- 3 Infiltración multifocal de más del 75%
- 4 Infiltración difusa

6.2 Inmunohistoquímica para PCV2

Se realizó la técnica de inmunoperoxidasa con el complejo de avidina-biotina a 14 nódulos linfáticos de los 37 lechones que presentaron depleción linfocitaria ligera a moderada. Se realizaron cortes de 3-4µm a partir de los bloques de parafina en portaobjetos silinizados. Se llevó a cabo una desparafinación e hidratación de las preparaciones. Posteriormente, se realizó una inhibición de la peroxidasa endógena con una solución de metanol+ agua oxigenada al 3% y se incubó por 30 minutos.

Se realizó un tratamiento enzimático con Proteasa al 0.1% (PBS+Proteasa) y se incubó a 37°C en baño María durante 8 minutos. Pasado este tiempo se añadió 100µl a cada preparación una solución de PBS+ Albumina bovina al 2% (esto para evitar uniones inespecíficas de los anticuerpos) y se incubó por 60 minutos a temperatura ambiente.

“HALLAZGOS HISTOPATOLÓGICOS E IMPLICACIÓN DEL PCV2, PoRV Y PRRSV EN LECHONES CON DESMEDRO DE GRANJAS DE MÉXICO”

El anticuerpo primario utilizado fue un Ac. Monoclonal 36A9 (INGENASA; Madrid) específico para VP2 de circovirus porcino tipo 2, el cual se diluyó en PBS/Albumina al 2% y se incubó durante toda la noche a 4°C.

Se utilizó el kit ENVISION anti-mouse HRP (Dako, Glostrup, Denmark), del cual se añadieron 2 gotas a cada preparación y se incubó por 60 minutos a temperatura ambiente. Seguido de esto, se realizó el revelado con Diaminobenzidina (DAB) controlando el tiempo al microscopio con los controles positivos.

Finalmente, se contrastó con Hematoxilina de Mayer durante 5 segundos, se lavaron con agua corriente, se deshidrataron y se montaron las preparaciones con DPX.

6.3 Pruebas de biología molecular

Extracción de ADN y ARN: La extracción del ADN total para PCV2 se obtuvo a partir de homogenados de tejido congelado (nódulos linfoides, bazo, tonsila, pulmón y cerebro) utilizando el kit QIAamp DNA Mini kit (QIAGEN) y se realizó de acuerdo a las instrucciones del fabricante. La extracción de ARN para PRRSV y PoRV se efectuó a partir de los mismos homogenados de tejido congelado, utilizando el kit RNeasy Mini Kit (QIAGEN), según las instrucciones del fabricante.

PCR para la detección de PCV2. Los cebadores utilizados fueron 5' CAGCAACATGCCAGCAAGAAGAAT'3 y 5' TCGATCACACAGTCTCAGTAG-3', que flanquean el ORF V1 (Ogawa H *et al.*, 2009). El producto de amplificación de la PCR fue de 703 pb. Las condiciones de la reacción de PCR fueron: tampón de PCR 1X, 1.5 mM de MgCl₂, 200 μM de dNTP's, 20 pmol de cada iniciador, 1.25 U de Taq polimerasa Gold y 2 μl de ADN, para un volumen final de 25 μl. La PCR se realizó con un ciclo de 94°C durante 4 min, 35 ciclos de 94°C durante 30 s, 54°C durante 30 s y 68°C durante 90 s y un ciclo de extensión final a 68°C durante 3 min.

“HALLAZGOS HISTOPATOLÓGICOS E IMPLICACIÓN DEL PCV2, PoRV Y PRRSV EN LECHONES CON DESMEDRO DE GRANJAS DE MÉXICO”

RT-PCR para la detección de PRRSV. El producto esperado de la RT-PCR fue de 300 pb y se usaron los cebadores descritos previamente: 5'-CCAGCCAGTCAATCARCTGTG-3' y 5'-GCCAATCAGGCGCACWGTATG-3' (Donadeu *et al.*, 1999) que flanquean el ORF 7. Las condiciones para la RT-PCR fueron las siguientes: tampón de PCR 1X, 2.5 mM de MgCl₂, 0.4 mM de dNTPs, 20 pmol de cada cebador, 1.25 U de Taq polimerasa, 3 µg de albúmina sérica bovina y 1 µl de ARN molde para un volumen final de 25 µl. La PCR se realizó con un ciclo de 48°C durante 30 min, un ciclo de 94°C durante 10 min, 35 ciclos de 94°C durante 1 min, 58°C por 1 min y 72°C durante 1 min y un ciclo final de 72°C durante 7 min.

RT-PCR para la detección de PoRV. Se utilizaron los cebadores 5'TCCCCCGATGCGATTATTGAG'3 y 5'CCCCCTTCGAGCTGGATTCTG'3 (Wiman A *et al.*, 1998), que permite amplificar un fragmento que flanquea al Gen NP; el producto de amplificación fue de 375 pb. Las condiciones de la reacción de RT-PCR fueron: tampón de PCR 1X, 2.5 mM de MgCl₂, 200 µM de dNTP's, 20 pmol de cada iniciador, 5 U de inhibidor de ARNasas, 2.5 U de Taq polimerasa Gold, 12 U de transcriptasa reversa, 3 µg de albúmina sérica bovina y 2 µl de ARN, para obtener un volumen final de 25 µl. La amplificación se realizó con un ciclo a 48°C durante 30 min y 95°C durante 10 min, 35 ciclos de 94°C durante 1 min, 58°C por 1 min y 72°C durante 1 min y un ciclo de extensión final de 72°C durante 7 min.

Los productos amplificados se analizaron por electroforesis en geles de agarosa al 1.5% en tampón de Tris-ácido acético-EDTA (TAE), teñido con GelRed™ como agente revelador. La electroforesis se llevó a cabo a 80 V durante 40 min. Posteriormente, los geles se observaron bajo luz ultravioleta con el equipo GeL Logic 1500 Imaging System.

Se realizó una base de datos para registrar los datos de anamnesis, las lesiones histopatológicas y los resultados de PCR/RT-PCR.

“HALLAZGOS HISTOPATOLÓGICOS E IMPLICACIÓN DEL PCV2, PoRV Y PRRSV EN LECHONES CON DESMEDRO DE GRANJAS DE MÉXICO”

VII. LÍMITE DE TIEMPO

ACTIVIDADES	Agosto 2013 -Enero 2014	Febrero- Julio 2014	Agosto 2014 -Enero 2015	Febrero- Julio 2015
Realización de protocolo de investigación	X	X		
Búsqueda de información científica	X	X		
Obtención de muestras y trabajo de laboratorio	X	X	X	
Obtención de resultados			X	X
Análisis de resultados			X	X
Redacción de tesis y artículo científico				X

“HALLAZGOS HISTOPATOLÓGICOS E IMPLICACIÓN DEL PCV2, PoRV Y PRRSV EN LECHONES CON DESMEDRO DE GRANJAS DE MÉXICO”

VIII. RESULTADOS

7.1 Artículo

Canadian Veterinary Journal

1

1 **HISTOPATHOLOGICAL AND VIROLOGICAL FINDINGS IN EMACIATED PIGS**
2 **FROM MEXICO: AN EXPLORATORY STUDY**

3 Aide Alpizar^{1,2}, Joaquim Segalés^{3,4}, Simón Martínez², Atalo Martínez⁵, Guadalupe Socci⁵,
4 Dionicio Córdova⁵, Raul Fajardo²

5 ¹*Posgrado en Ciencias Agropecuarias y Recursos Naturales (PCARN). Universidad Autónoma*
6 *del Estado de México (UAEM). El Cerrillo Piedras Blancas. CP. 50200. Toluca, México.*

7 ²*Centro de Investigación y Estudios Avanzados en Salud Animal (CIESA), Facultad de Medicina*
8 *Veterinaria y Zootecnia (FMVZ), Universidad Autónoma del Estado de México (UAEM).*
9 *Carretera Toluca-Atlaconulco Km. 15.5. CP. 50200. Toluca, México.*

10 ³*UAB, Centre de Recerca en Sanitat Animal (CReSA, IRTA-UAB), Campus de la Universitat*
11 *Autònoma de Barcelona, 08193 Bellaterra, Spain.*

12 ⁴*Departament de Sanitat i d'Anatomia Animals, Universitat Autònoma de Barcelona, Bellaterra,*
13 *Spain.*

14 ⁵*Centro Nacional de Investigación Disciplinaria Microbiología (CENID Microbiología),*
15 *Instituto Nacional de Investigaciones Forestales Agrícolas y Pecuarias (INIFAP). Carretera*
16 *federal México-Toluca km 15.5, Col. Palo Alto México D.F. C.P. 05110.*

17

18 **Corresponding autor:**

19 Raul Fajardo.

20 Centro de Investigación y Estudios Avanzados en Salud Animal (CIESA), Facultad de Medicina
21 Veterinaria y Zootecnia (FMVZ), Universidad Autónoma del Estado de México (UAEM).
22 Carretera Toluca-Atlaconulco Km. 15.5. CP. 50200. Toluca, México. Telephone:
23 +5217221680892. Fax: +527222965555.

24 e-mail: raul_fajard@hotmail.com

<https://mc06.manuscriptcentral.com/cvj-pubs>

“HALLAZGOS HISTOPATOLÓGICOS E IMPLICACIÓN DEL PCV2, PoRV Y PRRSV EN LECHONES CON DESMEDRO DE GRANJAS DE MÉXICO”

1 of 11

Canadian Veterinary Journal

2

25 **ABSTRACT**

26 Thirty-seven necropsies of pigs with wasting were performed. Major histopathological findings
27 were interstitial pneumonia and lymphoid depletion. Through PCR and/or RT-PCR, 16/37, 18/37
28 and 1/37 were positive for PCV2, PRRSV and PoRV, respectively. Infection with PRRSV and
29 PCV2 is a common finding in pigs with wasting in Mexico.

30

31 **Keywords:** wasting, histopathological, porcine circovirus type 2, porcine reproductive and
32 respiratory syndrome virus, porcine rubulavirus.

33

34 **RÉSUMÉ**

35 Trente-sept autopsies chez des porcs avec de l'amaigrissement ont été effectuées. Les principaux
36 résultats histopathologiques étaient la pneumonie interstitielle et la déplétion lymphoïde. Grâce à
37 la PCR et/ou RT-PCR, 16/37, 18/37 et 1/37 ont été positifs au PCV2, PRRSV et au PoRV,
38 respectivement. L'infection par le virus PRRSV et PCV2 c'est une condition commune chez les
39 porcs avec de l'amaigrissement au Mexique.

<https://mc06.manuscriptcentral.com/cvj-pubs>

40 Wasting in nursery and fattening piglets is a significant problem that affects swine
41 production; in fact, it is estimated that at least 10% of pigs reared under intensive conditions
42 develop this clinical condition (1). The term wasting does not imply a diagnosis by itself but is a
43 clinical term to describe a physical condition characterized by growth retardation and is usually
44 multifactorial origin. Among these factors, multiple microbial agents, and environmental,
45 nutritional and management effects can be evoked. In many cases the existence of wasting has
46 been confused with the specific condition of porcine circovirus type 2-systemic disease (PCV2-
47 SD, previously known as post-weaning multisystemic wasting syndrome, PMWS). In addition to
48 PCV2, there is a number of viral diseases that produce growth retardation in post-weaning pigs
49 such as porcine reproductive and respiratory syndrome (PRRS) (2) and blue eye disease (BED)
50 (present only in Mexico) (3). These diseases cause great economic losses and predispose to the
51 development of co-infections with bacteria such as *Streptococcus suis*, *Haemophilus parasuis*,
52 *Actinobacillus pleuropneumoniae*, *Mycoplasma hyopneumoniae*, *Pasteurella multocida*, among
53 others (2).

54 So far, wasting associated with PCV2, PRRSV and PoRV infections and co-infections has
55 not been thoroughly described in Mexico. Therefore, the aim of this study was to identify
56 histopathological lesions and involvement of these three viruses in wasted piglets from farms of
57 the *Bajío* region of Mexico.

58 A convenience sampling (non-random) was performed in 22 pig farms from the *Bajío*
59 region of the states of Jalisco, Michoacan and Guanajuato in Mexico. A total of 37 necropsies of
60 crossbred piglets (1-3 pigs/farm) were performed according to existing legislation (*Norma Oficial*
61 *Mexicana NOM-033-ZOO-1995, sacrificio humanitario de los animales domésticos y silvestres*).
62 Inclusion criteria were 6-16 week-old pigs displaying marked growth retardation (body condition

“HALLAZGOS HISTOPATOLÓGICOS E IMPLICACIÓN DEL PCV2, PoRV Y PRRSV EN LECHONES CON DESMEDRO DE GRANJAS DE MÉXICO”

3 of 11

Canadian Veterinary Journal

4

63 scoring of 1 or 2). Tissue samples of lung, lymph nodes, spleen, tonsil and brain were taken for
64 histopathological analysis, PCR and/or immunohistochemistry.

65 Tissue samples for histopathology were fixed for 24 h in 10% buffered formalin,
66 embedded in paraffin and cut to a thickness of 6 µm. Histological sections were stained with
67 hematoxylin and eosin and tissues examined by light microscopy. Interstitial lung lesions were
68 classified according to the criteria of Halbur PG *et al.* (1995) and lymphocyte depletion and
69 granulomatous inflammation were scored according to the criteria of Grau-Roma L *et al.* (2009).

70 An immunohistochemical technique was performed using the avidin-biotin complex method in
71 14 lymph nodes that showed mild to moderate lymphocyte depletion. The commercial
72 monoclonal primary antibody 36A9 specific for the capsid protein of PCV2 (INGENASA) was
73 incubated overnight at 4°C. ENVISION kit anti-mouse HRP (Dako, Glostrup, Denmark) was
74 incubated for 60 min at room temperature. The development of labelling was performed with
75 Diaminobenzidine for 5 min. The slides were counterstained with Meyer's hematoxylin.

76 Frozen tissue homogenates (lymph nodes, spleen, tonsil, lung and brain) were used to
77 extract DNA (QIAamp DNA Mini kit, QIAGEN) and RNA (RNeasy Mini Kit, QIAGEN)
78 according to the manufacturer's instructions. DNA was used to amplify PCV2 genome by PCR
79 (Ogawa H *et al.*, 2009, giving an amplicon product of 703 pb) while RNA was used to detect
80 PRRSV (Donadeu M *et al.*, 1999, with an amplicon product of 300 pb) and PoRV (Wiman A *et al.*,
81 1998, amplicon product of 374 bp) genomes by RT-PCR methods, respectively. Amplified
82 products were analyzed by gel electrophoresis in 1.5% agarose Tris-acetic acid-EDTA (TAE),
83 stained with GelRed™ as developing agent.

84 Histopathological findings are summarized in Table 1.

85 Globally, 25/37 pigs had mild to moderate interstitial pneumonia with multifocal
86 distribution (Figure 1a); in some cases, foci of necrosis and/or groups of macrophages were

<https://mc06.manuscriptcentral.com/cvj-pubs>

87 observed. Catarrhal-purulent bronchopneumonia was observed in 7/37 pigs (Figure 1b). Four
88 lungs displayed both interstitial and catarrhal-purulent bronchopneumonia. Broncho-interstitial
89 pneumonia was found in 5/37 pigs (Figure 1c). Finally, 2/37 animals had fibrino-hemorrhagic-
90 necrotizing pleuropneumonia. A single pig displayed proliferative necrotizing pneumonia
91 multifocally.

92 Lymphocyte depletion was detected in 14/37 animals; 9 of them had slight lymphocyte
93 depletion characterized by less than 25% of the lymphoid follicles loss and 5 showed moderate
94 lesions with 25-75% loss of follicles (Figure 1d). Mild to moderate macrophage infiltration
95 located in intrafollicular areas was found in a multifocal distribution in lymph nodes of 4 pigs.
96 One of these pigs showed PCV2 antigen in the lymph node, with moderate labelling in the
97 cytoplasm of scattered macrophages in the lymph node parenchyma (Figure 1e). Multifocal
98 necrosis was observed in 3 cases with moderate lymphocyte depletion, being one of them of
99 generalized distribution together with sporadic mineralization and disseminated intravascular
100 coagulation.

101 Regarding nervous system, 2/37 pigs had non-suppurative meningoencephalitis. Finally,
102 8/37 pigs showed no apparent injury in any of the tissues observed.

103 A total of 16/37 (43%) pigs were PCR positive for PCV2, 18/37 (49%) yielded a positive
104 RT-PCR for PRRSV (North American strain) and 1/37 (3%) pigs PoRV. PCV2 and PRRSV co-
105 infection was noticed in 7/37 (19%) piglets, while only 1/37 (3%) was positive both for PRRSV
106 and PoRV. Finally, 10/37 (27%) animals were negative for all three viruses.

107 In the present study, histopathological and viral detection methods showed that 73% of
108 wasted pigs were associated with infections or co-infections with PRRSV and PCV2. It has been
109 reported that both viral agents are two of most important causes of growth retardation in the
110 postweaning area (9). In contrast, and despite animals came from the only region in the world

“HALLAZGOS HISTOPATOLÓGICOS E IMPLICACIÓN DEL PCV2, PoRV Y PRRSV EN LECHONES CON DESMEDRO DE GRANJAS DE MÉXICO”

5 of 11

Canadian Veterinary Journal

6

111 where PoRV infections have been described, only 2 piglets had suggestive lesions of PoRV and
112 only one was RT-PCR positive for this virus. Therefore, it looks like that PoRV played a
113 relatively minimal role in the causation of clinical wasting in the studied pigs.

114 The histopathological lesions and the presence of PRRSV found in 49% of the pigs
115 sampled in this study further supports serological studies in different regions of Mexico that
116 demonstrate a high seroprevalence of PRRSV in the country (10). According to the obtained
117 results, PCV2 was detected in 43% of piglets. In Mexico, as in many parts of the world, PCV2 is
118 a ubiquitous virus (11), but the prevalence of PCV2-SD has never been determined. The present
119 study cannot give insights on the prevalence of disease linked to PCV2; the chronic status of
120 selected animals prevented the fulfilment of the recommended way to establish the diagnosis of
121 PCV2-SD, which includes the examination of animals in the acute-subacute phase of the disease
122 (12). Based on obtained results, however, one pig fulfilled the diagnosis of PCV2-SD since it was
123 suffering from wasting together with moderate lymphocyte depletion and granulomatous
124 inflammation of lymphoid tissues, moderate amount of PCV2 antigen in these tissues and PCV2
125 positive PCR. The same animal was also positive by PRRSV RT-PCR and had lesions
126 compatible with a bacterial pulmonary infection (catarrhal-purulent bronchopneumonia). In
127 addition, two more pigs had moderate histopathological lesions compatible with PCV2-SD, but
128 they were both negative by immunohistochemistry and only one positive by PCR. Again, the
129 chronicity of the clinical condition may have prevented a potential diagnosis of PCV2-SD and it
130 is very likely that they represent animals in the convalescent phase of the disease.

131 It is important to highlight that 38% of pigs had pulmonary lesions suggestive of bacterial
132 infections. It is possible that potential immunosuppression or immunomodulation of viral origin
133 (PCV2 and/or PRRSV mainly) favored the development of these infections, probably caused by
134 *Pasteurella multocida*, *Mycoplasma hyopneumoniae* and *Actinobacillus pleuropneumoniae*.

<https://mc06.manuscriptcentral.com/cvj-pubs>

“HALLAZGOS HISTOPATOLÓGICOS E IMPLICACIÓN DEL PCV2, PoRV Y PRRSV EN LECHONES CON DESMEDRO DE GRANJAS DE MÉXICO”

135 A significant number of analyzed pigs (22%) did not show histopathological lesions
136 compatible with infections by any of the three viruses under study (PRRSV, PCV2 and/or
137 PoRV). Since wasting is by definition a chronic expression of disease, it cannot be ruled out that
138 those infectious agents may have played a role at earlier stages and, at the moment of necropsy,
139 some of the pigs did not show lesions already, or they might cleared the virus. Moreover, growth
140 retardation could be associated also with other etiologies. In addition to these potential infectious
141 agents causing wasting, other non-infectious causes may also be present, including periweaning
142 failure-to-thrive syndrome (13), digestive disorders of infectious or non-infectious origin,
143 environment, nutrition, management, etc.

144 In summary, results obtained in this study suggest that PCV2 and PRRSV are present very
145 often (alone or in co-infection) in wasted pigs from Mexican farms. In contrast, the presence of
146 PoRV and histopathology injuries associated to this viral infection were very scarce in the studied
147 animals.

148 **ACKNOWLEDGEMENTS**

149 The authors of this work acknowledge funding of SIGI project No. 19144832016: “*Identificación*
150 *y caracterización de variantes genéticas y antigénicas del rubulavirus porcino; y caracterización*
151 *de sus parámetros histopatológicos e inmunológicos*”, else to CONACyT for partial funding.

152 **REFERENCES**

- 153 1. García CAC, Martínez BNR, Amaro GR, Aguirre AFA, Angulo M. Manual de evaluación de
154 la unidad de producción porcina. SAGARPA, INIFAP, CIRPAS. Publicación Especial No. 45.
155 México, 2008, p. 20-24.
- 156 2. Segalés J, Allan, GM, Domingo M. Porcine circovirus diseases. Anim Health Res Rev. 2005;
157 6(2): 119-142.

“HALLAZGOS HISTOPATOLÓGICOS E IMPLICACIÓN DEL PCV2, PoRV Y PRRSV EN LECHONES CON DESMEDRO DE GRANJAS DE MÉXICO”

7 of 11

Canadian Veterinary Journal

8

- 158 3. Kirkland PD, Sthephano A, Weingartl HM. Chapter 41. Paramyxoviruses. Disease of Swine.
159 10th Ed. Wiley Blackwell, USA. 2012. pp: 572-576.
- 160 4. Halbur PG, Paul PS, Frey ML, et al. Comparison of the pathogenicity of two US porcine
161 reproductive and respiratory syndrome virus isolates with that of the Lelystad virus. Vet Pathol.
162 1995; 32, 648-660.
- 163 5. Grau-Roma L, Hjulager CK, Sibila M et al. Infection, excretion and seroconversion dynamics
164 of porcine circovirus type 2 (PCV2) in pigs from post-weaning multisystemic wasting syndrome
165 (PMWS) affected farms in Spain and Denmark. Vet Microbiol. 2009; 135, 272-282.
- 166 6. Ogawa H, Taira O, Hirai T, et al. Multiplex PCR and multiplex RT-PCR for inclusive
167 detection of major swine DNA and RNA viruses in pigs with multiple infections. J Virol
168 Methods. 2009; 160: 210–214.
- 169 7. Donadeu M, Arias M, Gomez-Tejedor C. Using polymerase chain reaction to obtain PRRSV-
170 free piglets from endemically infected herds. J Swine Health Prod. 1999; 7(6): 255-261.
- 171 8. Wiman AC, Hjertner B, Linné T, et al. Porcine rubulavirus LPMV RNA persists in the central
172 nervous system of pigs after recovery from acute infection. J Neurovirol. 1998; 4:545-552.
- 173 9. Reséndiz M, Montalvo-Corral M, Flores-Mendoza L, Ramírez-Mendoza H, Segalés J,
174 Hernández J. Expresión de citocinas en cerdos co-infectados con circovirus porcino tipo 2 y el
175 virus del síndrome respiratorio y reproductivo porcino. Vet Mex. 2012; 43 (1): 45-58.
- 176 10. Sierra N, Ramírez R, Mota R. Aislamiento del virus de PRRS en México: Estudio clínico,
177 serológico y virológico. Arch Med Vet. 2000; 32: 1-9.
- 178 11. Ramírez MH, Martínez C, Mercado C, Castillo JH, Hernández J, Segalés J. Porcine
179 circovirus type 2 antibody detection in backyard pigs from Mexico City. Res Vet Sci. 2007;
180 83:130-132.

<https://mc06.manuscriptcentral.com/cvj-pubs>

“HALLAZGOS HISTOPATOLÓGICOS E IMPLICACIÓN DEL PCV2, PoRV Y PRRSV EN LECHONES CON DESMEDRO DE GRANJAS DE MÉXICO”

Canadian Veterinary Journal

Page 8

9

- 181 12. Segalés J. Porcine circovirus type 2 (PCV2) infections: Clinical signs, pathology and
182 laboratory diagnosis. *Virus Res.* 2012; 164: 10-19.
- 183 13. Huang Y, Gauvreau H, Harding J. Diagnostic investigation of porcine periweaning failure-to-
184 thrive syndrome: lack of compelling evidence linking to common porcine pathogens. *J Vet Diagn*
185 *Invest.* 2012; 24(1):96-106.

For Review Only

<https://mc06.manuscriptcentral.com/cvj-pubs>

“HALLAZGOS HISTOPATOLÓGICOS E IMPLICACIÓN DEL PCV2, PoRV Y PRRSV EN LECHONES CON DESMEDRO DE GRANJAS DE MÉXICO”

9 of 11

Canadian Veterinary Journal

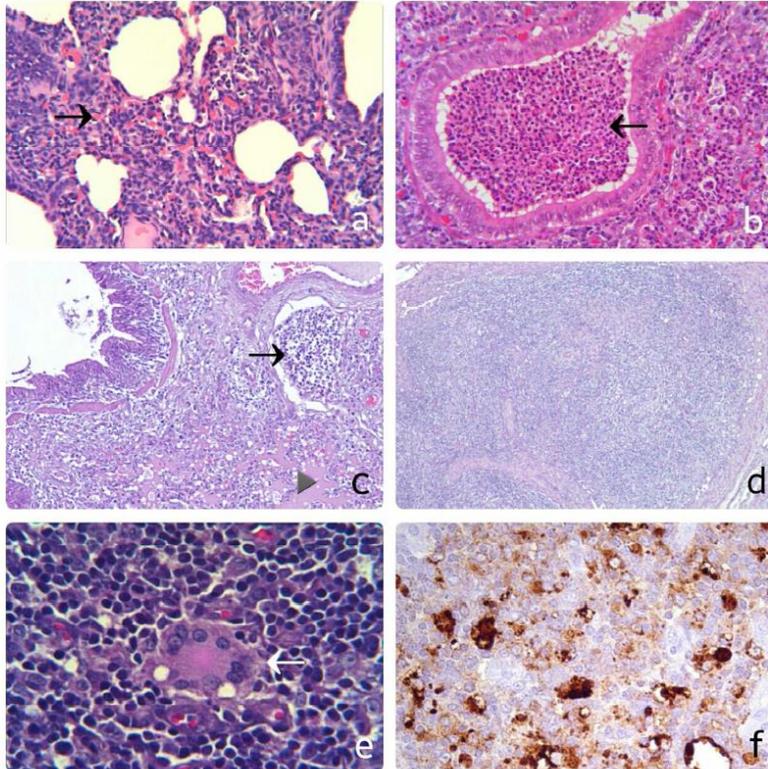


Figure 1. Histological sections of lungs; a) Presence of moderate interstitial pneumonia, with thickening of the alveolar walls by infiltrating lymphocytes (arrow); this pig was PCV2 PCR positive and PRRSV RT-PCR positive. HE, 250x. b) Catarrhal-purulent bronchopneumonia composed by neutrophils and some lymphocytes within the bronchiolar lumen (arrow); PCV2 PCR positive animal. HE, 250x. c) Broncho-interstitial pneumonia, with lymphocytes, macrophages and edema (arrowhead) observed in the alveolar lumen, plus BALT hyperplasia (arrow); this animal was PRRSV RT-PCR positive. HE, 100x. Histological sections of lymph nodes, d) Marked lymphocyte depletion characterized by loss of lymphoid follicles; PCV2 PCR positive animal. HE, 40x. e) Mild granulomatous inflammation with presence of a multinucleated giant cell (arrow), this piglet was PCV2 PCR positive and PRRSV RT-PCR positive. HE, 630x. f) Presence of moderate number of macrophage/dendritic-like cells containing PCV2 antigen (brown staining). PCV2 immunohistochemistry and Haematoxylin counterstain, 200x.
451x451mm (72 x 72 DPI)

“HALLAZGOS HISTOPATOLÓGICOS E IMPLICACIÓN DEL PCV2, PoRV Y PRRSV EN LECHONES CON DESMEDRO DE GRANJAS DE MÉXICO”

Table 1. Histopathological lesions observed in studied pigs.

Histopathology lesions	Mild		Moderate	
	No. Animals	%	No. Animals	%
LYMPH NODES				
Lymphocyte depletion	9	24	5	14
Granulomatous lymphadenitis	2	5	2	5
LUNG				
Interstitial pneumonia	10	27	15	41
Catarrhal-purulent bronchopneumonia			7	19
Fibrino-necrotizing pleuropneumonia			5	14
Proliferative necrotizing pneumonia			2	5
Non-suppurative meningoencephalitis			2	5

“HALLAZGOS HISTOPATOLÓGICOS E IMPLICACIÓN DEL PCV2, PoRV Y PRRSV EN LECHONES CON DESMEDRO DE GRANJAS DE MÉXICO”

7.2 Análisis histopatológico

Los hallazgos histopatológicos en los pulmones de los 37 lechones principalmente fueron neumonía intersticial de ligeras a moderadas en 25/37 cerdos (68%) (Figura 2 a, b, c, d), algunas con distribución multifocal a difusas caracterizadas, principalmente, por engrosamiento de las paredes alveolares debido a una infiltración linfocitaria; en algunos casos se observaron focos de necrosis y/o agrupaciones de macrófagos y en 4/37 casos se encontraron neumonía intersticial moderada multifocal en combinación con bronconeumonía catarral purulenta. El 17% (7/37) de los pulmones mostraron bronconeumonía catarral purulenta, caracterizada por la presencia de gran cantidad de linfocitos y neutrófilos dentro de la luz bronquiolar y de los alveolos, en el 14% (5/37) de los lechones se observó neumonía bronquio-intersticial en diferentes grados (ligera a moderada multifocal), compuesta principalmente por gran cantidad de linfocitos, macrófagos y edema en la luz alveolar, además de hiperplasia del BALT y el 6% (2/37) de los pulmones presentaron pleuroneumonía fibrinohemorrágica y necrótica, en el parénquima pulmonar se observó gran cantidad de exudado fibrinoso y hemorragias y algunas áreas de necrosis.

En los nódulos linfáticos se observó principalmente depleción linfocitaria ligera a moderada (Figura 3 a, b, c, d), que se observó en 14 de 37 de los lechones (38%), en 3 casos con depleción linfocitaria moderada se observó necrosis multifocal y uno de estos casos presentó necrosis masiva del parénquima con esporádica mineralización y con coagulación intravascular diseminada. En algunos casos se observaron infiltraciones de macrófagos (4/37) de ligeras a moderadas ubicadas en las áreas intrafoliculares y distribuidas multifocal a difusas (figura 4a, b, c, d). Y se presentaron 2 casos con depleción linfocitaria ligera con marcada presencia de macrófagos cuerpo tingible.

En 4/37 (11%) de los lechones se observó depleción linfocitaria moderada con áreas de necrosis multifocal en los nódulos linfoides y uno presentó fibrosis del parénquima del linfonodo, En 2 de estos casos mostraron linfadenitis granulomatosa moderada difusa con

“HALLAZGOS HISTOPATOLÓGICOS E IMPLICACIÓN DEL PCV2, PoRV Y PRRSV EN LECHONES CON DESMEDRO DE GRANJAS DE MÉXICO”

presencia de algunas células gigantes multinucleadas (Figura 5a, b, c, d, e, f) y moderada cantidad de polimorfonucleares, en ningún animal se encontraron corpúsculos de inclusión.

Respecto a las lesiones en sistema nervioso se encontraron 2/37 (5.4%) lechones con meningoencefalitis no supurativa de moderada a severa.

En la tabla 2 se detallan los diagnósticos morfológicos histopatológicos encontrados en cada lechón.

“HALLAZGOS HISTOPATOLÓGICOS E IMPLICACIÓN DEL PCV2, PoRV Y PRRSV EN LECHONES CON DESMEDRO DE GRANJAS DE MÉXICO”

Tabla 2. Diagnósticos morfológicos y PCR convencional de lechones con desmedro.

No. Cerdo	Histopatología	Agente
	Diagnóstico morfológico	PCR
1	Dx1 Neumonía intersticial moderada multifocal con zonas de bronconeumonía catarral purulenta. Dx2 Depleción linfoide ligera-moderada.	PCV2
2	Dx1 Neumonía intersticial ligera multifocal	PCV2
3	Dx1 Neumonía bronquiointersticial ligera. Dx2 Linfadenitis granulomatosa ligera.	PCV2
4	Dx1 Neumonía bronquiointersticial ligera y neumonía intersticial leve. Dx2 Depleción linfoide ligera-moderada y necrosis multifocal.	PCV2
5	Dx1 Colapso alveolar.	Ninguno
6	Sin cambios patológicos aparentes.	Ninguno
7	Dx1 Neumonía intersticial moderada multifocal. Dx2 Depleción linfoide ligera.	PRRSV y PCV2
8	Dx1 Neumonía intersticial ligera multifocal. Dx2 Depleción linfoide ligera.	PRRSV
9	Dx1 Neumonía intersticial ligera multifocal y colapso alveolar. Dx2 Depleción linfoide necrótica moderada.	PCV2
10	Dx1 Edema cerebral. Dx2 Depleción linfoide necrótica moderada y linfadenitis granulomatosa moderada.	Ninguno
11	Sin cambios patológicos aparentes.	Ninguno
12	Sin cambios patológicos aparentes y colapso alveolar.	Ninguno
13	Sin cambios patológicos aparentes.	Ninguno
14	Dx1 Neumonía intersticial ligera multifocal.	PRRSV y PCV2
15	Dx1 Neumonía intersticial moderada difusa.	PRRSV
16	Dx1 Neumonía bronquiointersticial moderada multifocal y bronconeumonía catarral purulenta.	Ninguno
17	Dx1 Pleuroneumonía fibrinohemorrágica y necrótica severa. Dx2 focos de neumonía intersticial ligera.	PRRSV
18	Dx1 Pleuroneumonía fibrinohemorrágica severa. Dx2 Depleción linfoide ligera-moderada con linfadenitis granulomatosa ligera.	PRRSV
19	Dx1 Hepatitis	Ninguno
20	Sin cambios patológicos aparentes.	PCV2
21	Dx1 Neumonía intersticial moderada multifocal. Dx2 Depleción linfoide ligera.	PCV2

“HALLAZGOS HISTOPATOLÓGICOS E IMPLICACIÓN DEL PCV2, PoRV Y PRRSV EN LECHONES CON DESMEDRO DE GRANJAS DE MÉXICO”

22	Dx1 Bronconeumonía catarral purulenta, zonas de neumonía intersticial ligera y neumonía abscedativa.	PCV2 y PRRSV
23	Dx1 Bronconeumonía supurativa y zonas de neumonía intersticial moderada multifocal. Dx2 Depleción linfoide ligera con marcada presencia de macrófagos.	PCV2 y PRRSV
24	Dx1 Neumonía intersticial moderada multifocal, Dx2. Depleción linfoide ligera con marcada presencia de macrófagos.	PRRSV
25	Dx1 Bronconeumonía catarral purulenta y neumonía intersticial moderada multifocal.	PRRSV
26	Dx1 Neumonía intersticial ligera.	PRRSV
27	Dx1 Neumonía bronquiointersticial ligera-moderada.	Ninguno
28	Dx1 Neumonía necrótica multifocal. Dx2 Necrosis masiva del parénquima de los linfonodos.	PCV2
29	Dx1 Neumonía intersticial ligera-moderada multifocal y colapso alveolar.	PCV2, PRRSV
30	Dx1 Colapso alveolar secuestros pulmonares.	Ninguno
31	Dx1 Neumonía intersticial moderada multifocal.	PRRSV, PCV2
32	Dx1 Neumonía intersticial moderada multifocal y bronconeumonía catarral purulenta. Dx2 Depleción linfoide moderada con inflamación granulomatosa moderada y fibrosis del parénquima.	PRRSV
33	Dx1 Neumonía bronquiointersticial moderada multifocal.	PCV2
34	Dx1 Neumonía intersticial moderada multifocal. Dx2. Meningoencefalitis severa. Dx3: Hialinización del citoplasma de hepatocitos perilobulillares.	PRRS, PoRV
35	Dx1 Neumonía intersticial y bronconeumonía catarral purulenta. Dx2. Depleción linfoide ligera. Dx3. Meningoencefalitis severa.	PCV2 y PRRSV
36	Dx1 Neumonía intersticial moderada multifocal y colapso alveolar.	PRRSV
37	Dx1 Colapso alveolar	PRRSV

“HALLAZGOS HISTOPATOLÓGICOS E IMPLICACIÓN DEL PCV2, PoRV Y PRRSV EN LECHONES CON DESMEDRO DE GRANJAS DE MÉXICO”

Tabla 3. Lesiones histopatológicas observadas en los lechones con desmedro.

Lesiones	Ligera		Ligera-Moderada		Moderada-Grave	
	No. Animales	%	No. Animales	%	No. Animales	%
ÓRGANOS LINFOIDES						
Depleción linfocitaria (nódulos linfoides)	4	11	5	14	5	14
Linfadenitis granulomatosa			2	5	2	5
Depleción linfocitaria (bazo)	4	11	8	22	1	3
Esplenitis granulomatosa			2	5	2	5
Depleción linfocitaria (tonsila)	5	14	7	19	1	3
PULMÓN						
Neumonía intersticial			15	41	15	41
Bronconeumonía catarral purulenta					7	19
Neumonía bronquio-intersticial					5	14
Pleuroneumonía fibrinonecrótica					2	5
ENCÉFALO						
Meningoencefalitis no supurativa					2	5

“HALLAZGOS HISTOPATOLÓGICOS E IMPLICACIÓN DEL PCV2, PoRV Y PRRSV EN LECHONES CON DESMEDRO DE GRANJAS DE MÉXICO”

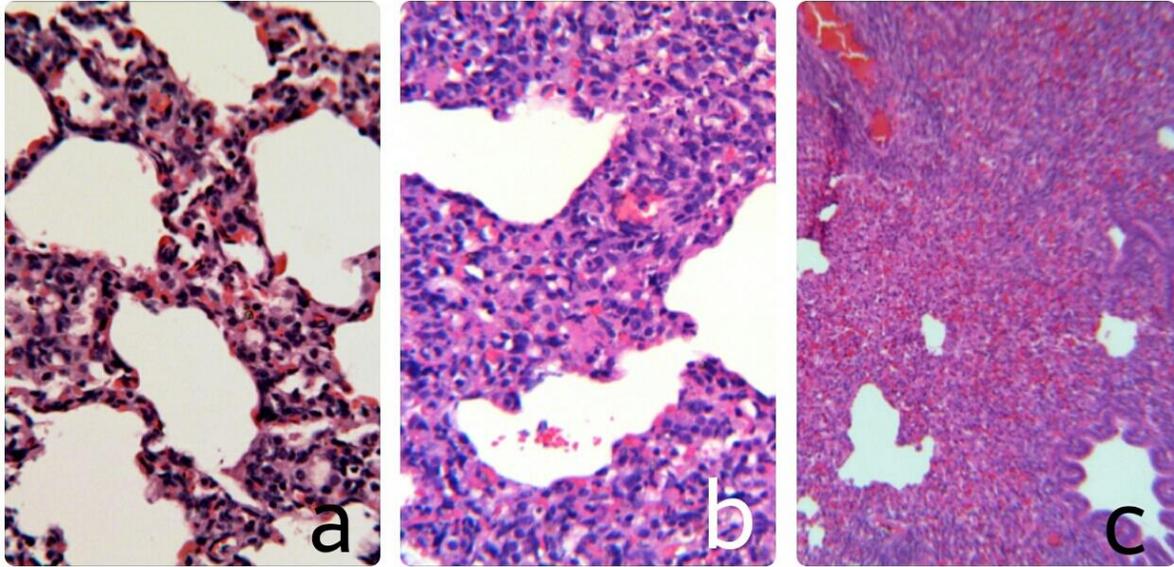


Figura 2. Neumonías intersticiales. a, b, c) Cortes histológicos de pulmón; a) presencia de neumonía intersticial ligera, se observa un ligero engrosamiento de las paredes alveolares por infiltración de linfocitos; infección por PRRSV. Col. HE, 630x. b) presencia de neumonía intersticial moderada, se observa un engrosamiento de las paredes alveolares por infiltración de linfocitos; infección concomitante por PRRSV y PCV2. Col. HE, 630x. c) neumonía intersticial grave, engrosamiento severo de las paredes alveolares y algunas zonas con congestión; PCR positivo a PCV2. Col. HE, 100x.

“HALLAZGOS HISTOPATOLÓGICOS E IMPLICACIÓN DEL PCV2, PoRV Y PRRSV EN LECHONES CON DESMEDRO DE GRANJAS DE MÉXICO”

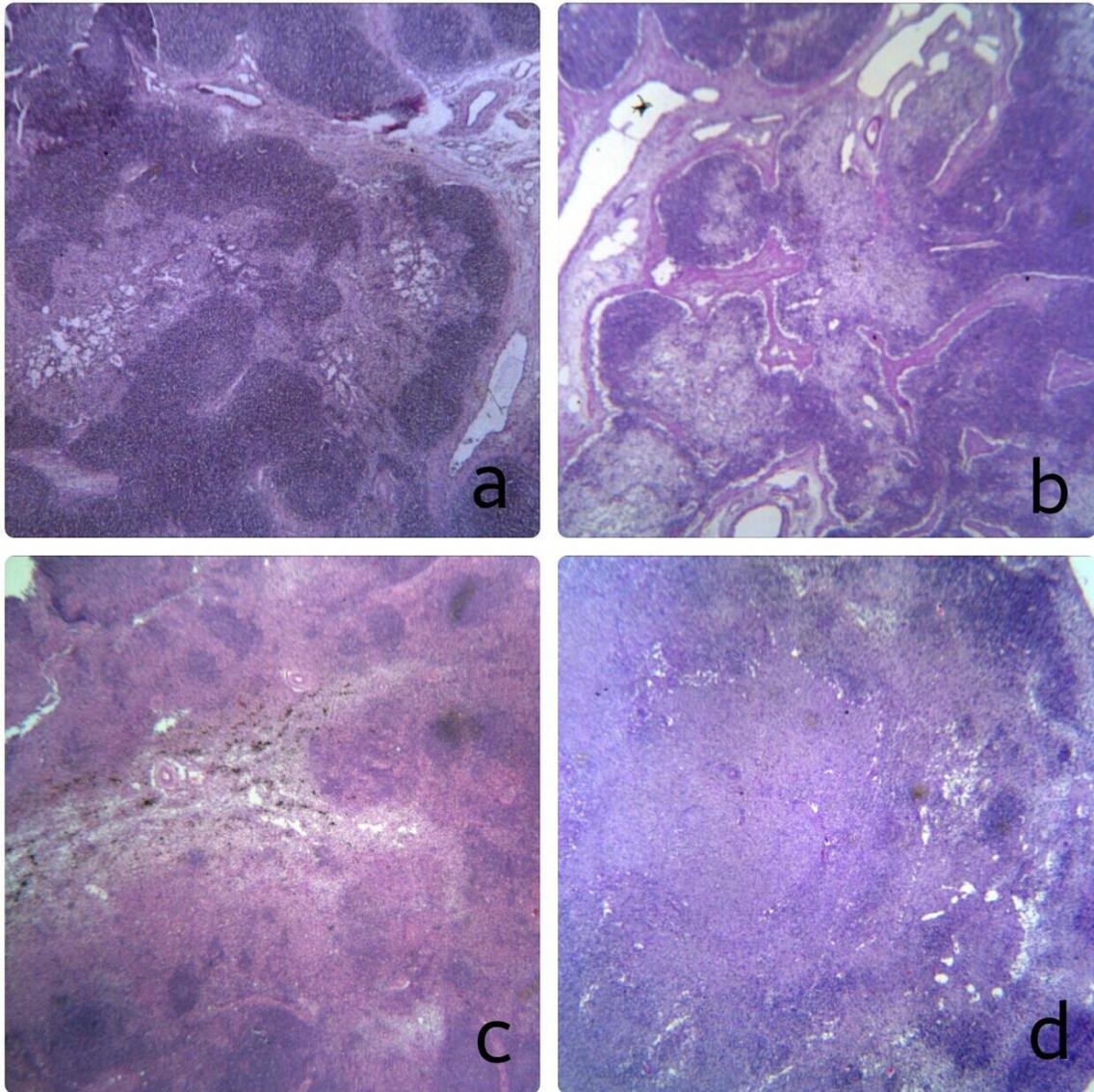


Figura 3. a, b, c, d) Cortes histológicos de nódulos linfáticos, depleción linfoide de nódulos linfoides. a) Depleción linfoide ligera. Col. HE, 25x. b) Depleción linfoide moderada con zonas de fibrosis. Col. HE, 25x. c) Depleción linfoide moderada caracterizada por desvanecimiento de los folículos linfoides, se observa algunas zonas con hemosiderosis. Col. HE, 25x. d) Depleción linfoide grave se observa desvanecimiento casi total de los folículos linfoides. Col. HE, 25x.

“HALLAZGOS HISTOPATOLÓGICOS E IMPLICACIÓN DEL PCV2, PoRV Y PRRSV EN LECHONES CON DESMEDRO DE GRANJAS DE MÉXICO”

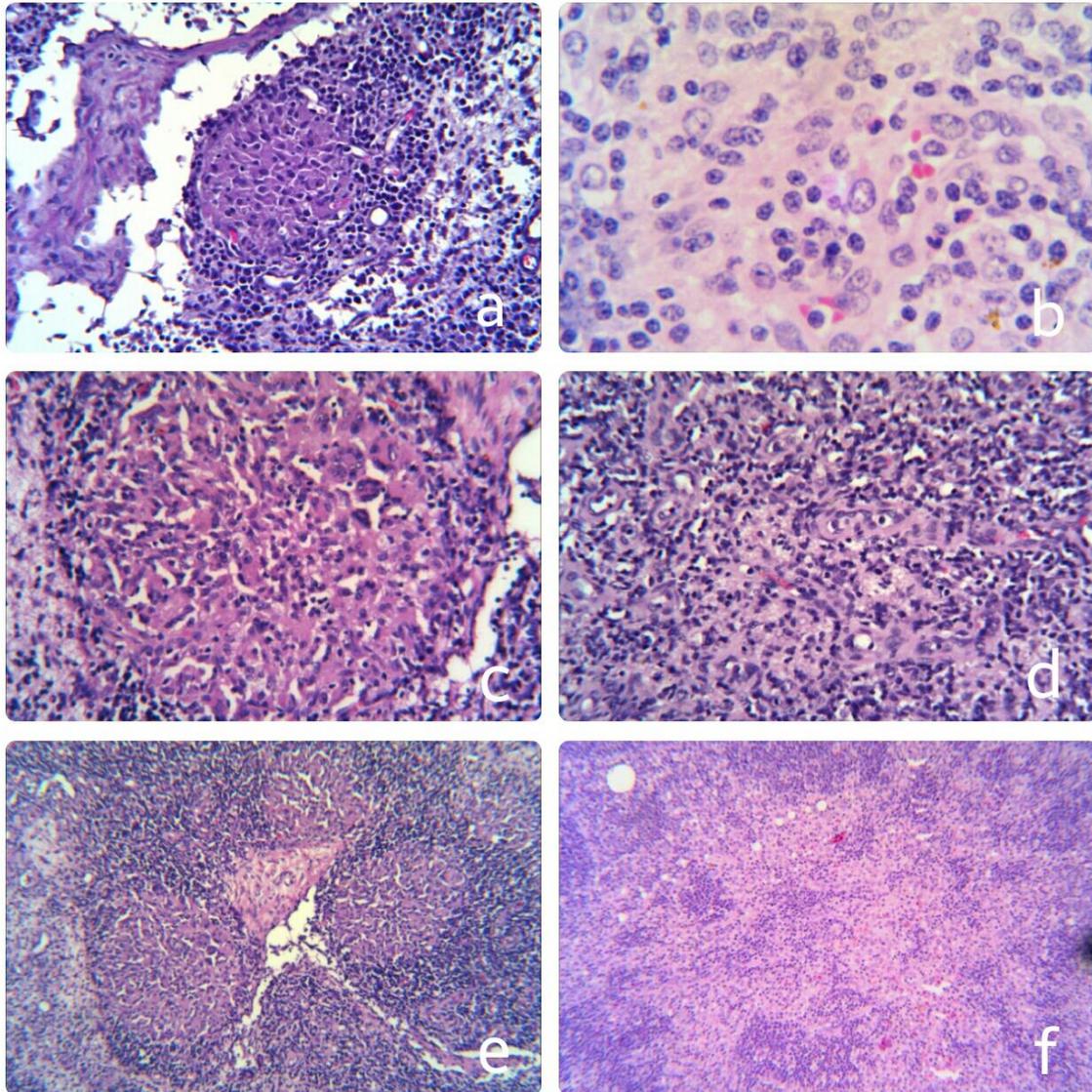


Figura 4. a, b, c, d) Cortes histológicos de nódulos linfáticos, inflamación granulomatosa. a) Se observa un foco de inflamación granulomatosa y presencia de macrófagos. Col. HE, 250x. b) presencia de moderada cantidad de macrófagos en el estroma del nódulo linfoide. Col. HE, 630x. c) foco de inflamación granulomatosa. Col. HE, 250x. d) inflamación granulomatosa ligera-moderada diseminada. Col. HE. 100x. e) presencia de múltiples focos de inflamación granulomatosa, col. HE. 100x. f) inflamación granulomatosa moderada difusa. HE. 100x.

“HALLAZGOS HISTOPATOLÓGICOS E IMPLICACIÓN DEL PCV2, PoRV Y PRRSV EN LECHONES CON DESMEDRO DE GRANJAS DE MÉXICO”

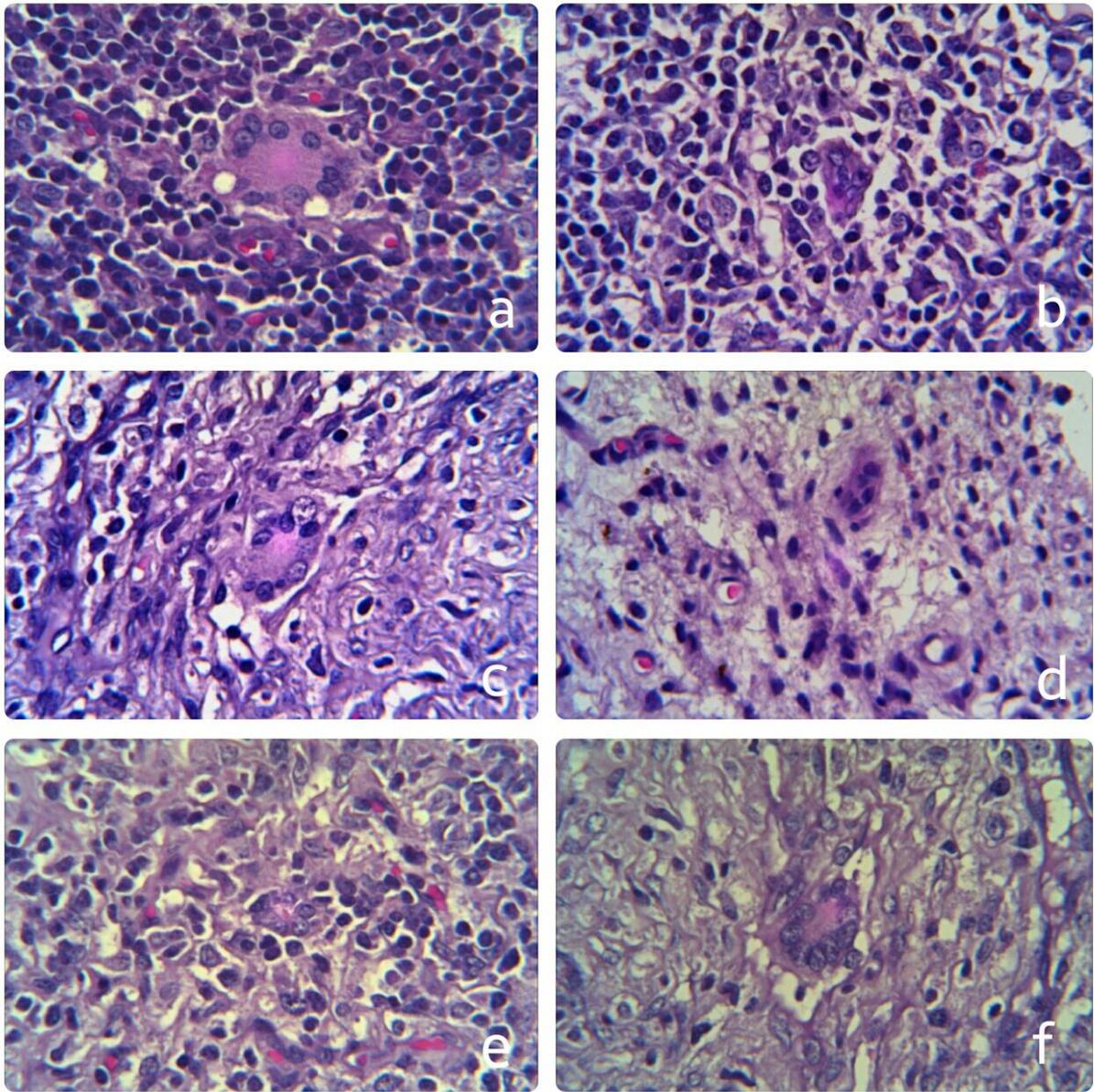


Figura 5. Células gigantes multinucleadas. a, b, c, d, e, f) Cortes histológicos de nódulos linfáticos con presencia de células gigantes multinucleadas y presencia de macrófagos. Col. HE. 630x.

“HALLAZGOS HISTOPATOLÓGICOS E IMPLICACIÓN DEL PCV2, PoRV Y PRRSV EN LECHONES CON DESMEDRO DE GRANJAS DE MÉXICO”

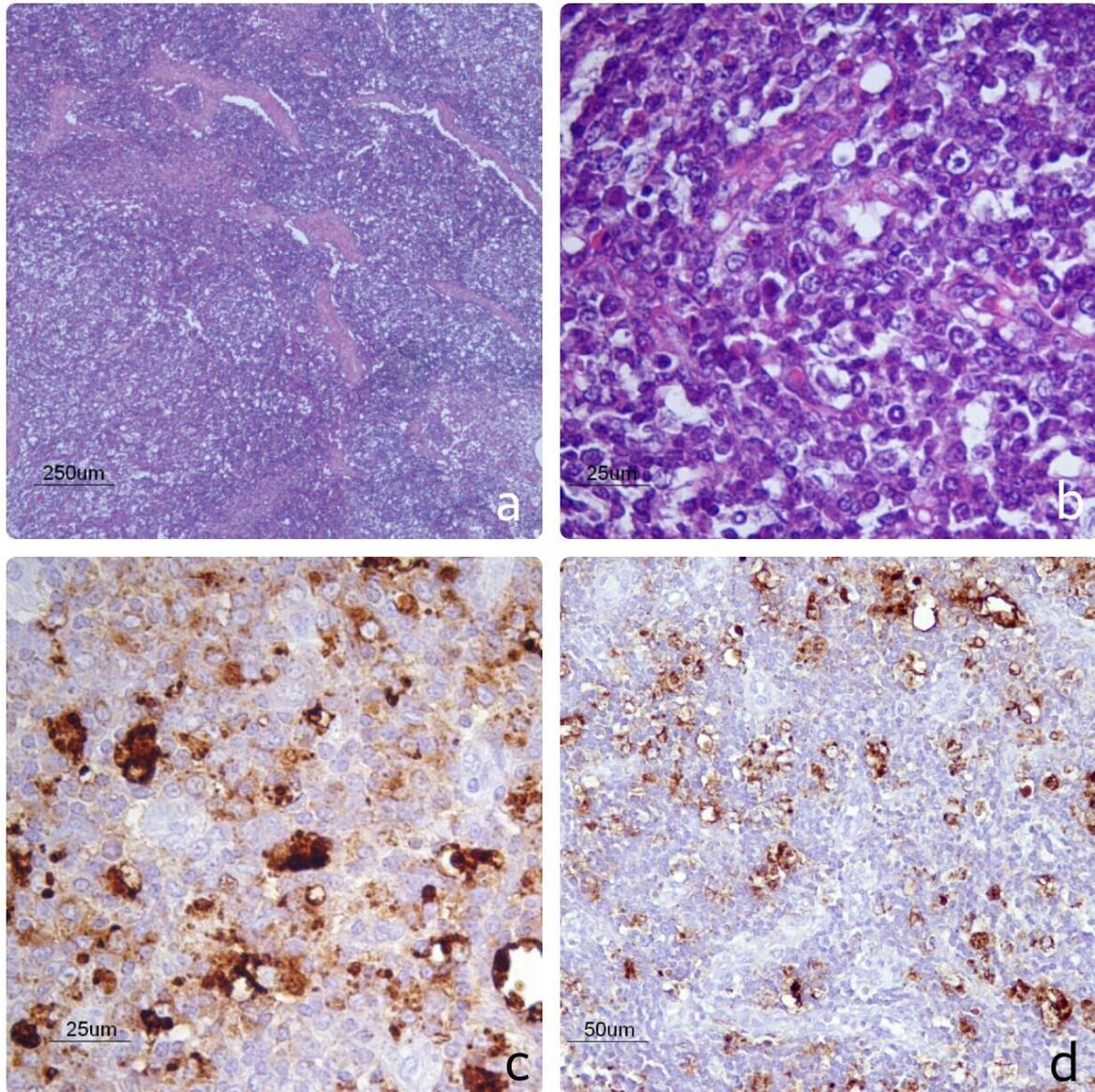


Figura 6. Lechón con CP, lesiones histopatológicas de los nódulos linfáticos. a, b, c, d) Cortes histológicos de nódulos linfáticos de lechón con circovirus porcina, a) depleción linfoide ligera con algunas zonas de fibrosis. Col. HE, 40x. b) inflamación granulomatosa ligera. Col. HE, 400x. c) presencia de gran cantidad (moderada a elevada) de células con apariencia macrófágica/dendrítica positivas por IHQ a antígeno de PCV2 (tinción marrón), IHQ, 200x. d). Control positivo a PCV2, nódulo linfático. 100x.

“HALLAZGOS HISTOPATOLÓGICOS E IMPLICACIÓN DEL PCV2, PoRV Y PRRSV EN LECHONES CON DESMEDRO DE GRANJAS DE MÉXICO”

7.3 PCR

Un total de 16/37 (43%) lechones fueron PCR positivos a PCV2, 18/37 (49%) casos a PRRSV (cepa norteamericana) y 1/37 (3%) cerdos a PoRV. En 7/37 (19%) lechones hubo co-infección entre PCV2 y PRRSV y en 1/37 (3%) se detectó PRRSV junto con PoRV. Finalmente, 10 de los 37 (27%) animales fueron negativos a los tres virus (Tabla 4).

Tabla 4. Frecuencia de detección de virus mediante PCR/RT-PCR a partir de homogenados de órganos de los lechones con desmedro.

Agente	No. de animales (%)
PCV2	9 (24)
PRRSV*	10 (27)
PRRSV*+PCV2	7 (19)
PRRSV*+PoRV	1 (3)
Negativos	10 (27)

PRRSV*= cepa Norteamericana.

7.4 Inmunohistoquímica para detección de PCV2

En la reacción de inmunohistoquímica se detectó 1/14 lechón positivo a antígeno de PCV2; este marcaje fue abundante en el citoplasma celular de numerosos macrófagos dispersos en los nódulos linfáticos (Figura 6 c).

“HALLAZGOS HISTOPATOLÓGICOS E IMPLICACIÓN DEL PCV2, PoRV Y PRRSV EN LECHONES CON DESMEDRO DE GRANJAS DE MÉXICO”

IX. DISCUSION

En este estudio los hallazgos histopatológicos junto con las pruebas moleculares demostraron que 73% de los lechones con desmedro se asoció a infecciones y coinfecciones por PRRSV y PCV2. Se ha descrito que estos agentes virales (PRRSV y PCV2) son los más importantes que ocasionan desmedro grave en los lechones postdestete (Reséndiz M *et al.*, 2012). Sólo el 5% de lechones presentó lesiones sugestivas asociadas al PoRV y debido a la baja frecuencia del PoRV en este estudio no se puede determinar el papel de este virus con la presentación del desmedro en comparación con el PRRSV y el PCV2.

El retraso en crecimiento o desmedro puede estar causado por múltiples posibilidades tanto infecciosas como no infecciosas. Dentro de las infecciosas está condición clínica es muy frecuente en muchos procesos crónicos (Grossberg AJ *et al.*, 2010, Zhaoa Q *et al.*, 2015). Actualmente, se acepta que el factor de necrosis tumoral alfa (TNF α) desempeña un papel clave en el desarrollo del desmedro. La persistencia de altos niveles de TNF α induce apoptosis de las células de diferenciación miogénica, lo que resulta en una pérdida de masa muscular (Zhaoa Q *et al.*, 2015). En la CP se produce una depleción linfocitaria moderada a grave en órganos linfoides induciendo una activación prolongada de los macrófagos, lo que conlleva a una sobreproducción de TNF α y otras citoquinas (IL1 β , IL8, IL2 e IL12) (Chang HW *et al.*, 2006). En el caso de PRRS, el virus se multiplica y destruye los macrófagos y el organismo no puede montar una respuesta efectiva contra el virus y otros agentes infecciosos, lo cual, resulta en una viremia prolongada e infección persistente (Hu SP *et al.*, 2012). Los mecanismos de cómo estos virus inducen desmedro no está bien descrito. No obstante, se han realizado estudios experimentales en macrófagos alveolares de cerdos, infectados por PCV2 y PRRSV, donde se observó elevada cantidad de TNF α (Chang HW *et al.*, 2006). También existen algunas descripciones que implican a la interleucina 10 (IL-10) en el desarrollo de la CP, debido a que en infecciones crónicas o persistentes se ha descrito una producción elevada de IL-10 (Doster A *et al.*, 2010, Gómez-Laguna J *et al.*, 2010). Sin embargo, en algunos estudios de medición de citocinas en lechones con desmedro e infección con PRRSV y PCV2

“HALLAZGOS HISTOPATOLÓGICOS E IMPLICACIÓN DEL PCV2, PoRV Y PRRSV EN LECHONES CON DESMEDRO DE GRANJAS DE MÉXICO”

mencionan que no hay producción significativa de IL-10 pero si existe una sobreexpresión de TNF α (Flores-Mendoza L *et al.*, 2009, Reséndiz M *et al.*, 2012).

En el 22% de los lechones muestreados no se encontraron lesiones histopatológicas compatibles con infecciones ni se detectó ninguno de los tres virus (PRRSV, PCV2 y/o PoRV), por lo que, el retraso de crecimiento en estos animales pudo estar asociado a cuadros más crónicos de estas infecciones o relacionado a otras etiologías. Además de estos problemas infecciosos, también se pueden presentar otros no infecciosos, incluido el síndrome del fallo peridestete; del cual aún se desconoce el agente causal (Huang Y *et al.*, 2012) y algunos procesos infecciosos digestivos (colibacilosis, salmonelosis, clostridiosis, gastroenteritis transmisible, diarrea epidémica, parásitos, entre otros). Asimismo, el desmedro en lechones recién destetados puede presentarse por problemas de tipo no infeccioso: medioambientales, nutricionales, de manejo y problemas relacionados con la selección genética; bajo peso al nacimiento debido a manipulación genética para obtener camadas más grandes.

Las lesiones histopatológicas y la presencia del virus de PRRS encontradas en el 49% de los lechones muestreados en este estudio, coincide con algunos estudios serológicos realizados en regiones de México que demuestran una alta seroprevalencia del PRRSV en el país (Sierra N *et al.* 2000).

De acuerdo con los resultados obtenidos, PCV2 se detectó en el 43% de los lechones y pudo contribuir de manera importante en el desarrollo del desmedro en estos animales. En México, se describió la presencia de la CP en el 2000 (Trujano M *et al.*, 2001) y para el 2007 se observó una seroprevalencia del 93% en granjas del país (Ramírez H *et al.*, 2007). Sin embargo, no hay datos actuales de la prevalencia de la enfermedad. Para el diagnóstico de la CP es necesario tomar en cuenta 3 criterios; la evidencia clínica de desmedro, el diagnóstico histopatológico y la identificación del agente; sin embargo, el criterio más importante para el diagnóstico son los hallazgos histopatológicos asociados a la presencia de PCV2 presentes en los lechones (Chae C, 2004, Segalés J, 2012). En este estudio se diagnosticó inequívocamente

“HALLAZGOS HISTOPATOLÓGICOS E IMPLICACIÓN DEL PCV2, PoRV Y PRRSV EN LECHONES CON DESMEDRO DE GRANJAS DE MÉXICO”

con CP un cerdo en base a datos clínicos, histopatológicos, PCR e IHC (Figura 6 a, b, c). No obstante, se presentaron 2 lechones con lesiones histopatológicas moderadas características de CP, sin embargo, ambos fueron IHQ negativos, en uno de ellos se detectó el virus por PCR y el otro fue PCR negativo a PCV2. Los 13 lechones (35%) sin lesiones histopatológicas, IHQ negativos pero fueron PCR positivos sugieren casos convalecientes de infección por PCV2.

Se ha descrito la presencia de otras infecciones o enfermedades en granjas con CP; entre ellas la co-infección más frecuente es con el PRRSV. En este estudio solo se observó un lechón con lesiones histopatológicas de CP co-infectado con PRRSV e indicios de infección bacteriana. En el 38% de los animales se observaron lesiones pulmonares sugerentes a infecciones bacterianas. Es posible que la potencial inmunosupresión o inmunomodulación de origen vírico (PCV2 y/o PRRSV) favorecieron el desarrollo de estas infecciones producidas probablemente por *Pasteurella multocida*, *Mycoplasma hyopneumoniae* y *Actinobacillus pleuropneumoniae*.

Respecto a los dos lechones con meningoencefalitis no supurativa y neumonía intersticial (lesiones sugerentes a la enfermedad producida por PoRV), ambos estaban co-infectados con PRRSV. Debido a que estos dos virus producen lesiones pulmonares similares, histopatológicamente no se pudo establecer cuál de los dos virus causó la neumonía intersticial. De acuerdo a un estudio de Martínez y col. (2011) existe una seroprevalencia del 27% del PoRV en la zona endémica de la enfermedad, sin embargo, en este estudio la frecuencia del PoRV fue muy baja en los lechones muestreados.

Los resultados obtenidos en este estudio sugieren que PCV2 y PRRSV muy frecuentemente se encuentran presentes (solos o en co-infección) en casos de desmedro grave en lechones postdestete en las granjas de México. Finalmente, la presencia del PoRV y la infección por este virus fue muy baja en las granjas muestreadas de la Región del Bajío en México.

“HALLAZGOS HISTOPATOLÓGICOS E IMPLICACIÓN DEL PCV2, PoRV Y PRRSV EN LECHONES CON DESMEDRO DE GRANJAS DE MÉXICO”

X. CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos en este estudio sugieren que PCV2 y PRRSV muy frecuentemente se encuentran presentes (solos o en co-infección) en casos de desmedro grave en lechones postdestete en las granjas de México. Finalmente, la presencia del PoRV y la infección por este virus fue muy baja en las granjas muestreadas de la Región del Bajío en México.

“HALLAZGOS HISTOPATOLÓGICOS E IMPLICACIÓN DEL PCV2, PoRV Y PRRSV EN LECHONES CON DESMEDRO DE GRANJAS DE MÉXICO”

XI. SUGERENCIAS

Es necesario profundizar en el estudio de la patogénesis del retraso del crecimiento y de los mecanismos por los cuales se desarrolla esta condición patológica en los cerdos, además, de la medición de las citoquinas liberadas en el proceso, ya que esto ha sido poco estudiado y reportado, y aún existen secuelas de la formas en que los procesos infecciosos crónicos en los cerdos provocan desmedro en los animales.

“HALLAZGOS HISTOPATOLÓGICOS E IMPLICACIÓN DEL PCV2, PoRV Y PRRSV EN LECHONES CON DESMEDRO DE GRANJAS DE MÉXICO”

XII. REFERENCIAS

Allan GM, Ellis JA (2000). Porcine circoviruses: a review, *J Vet Diagn Invest* 12: 3-14.

Cabello VMA, Torres GE (2010) *Carne de Porcino, 2010-2011*. Dirección de Análisis Económico y Consultoría. FIRA.

Chae C (2004). Postweaning multisystemic wasting syndrome: a review of aetiology, diagnosis and pathology. *Vet J*, 168:41-49.

Chang HW, Jeng CR, Lin TR, Liu JJ, Chiou MT, Tsai YC, Chia MY, Jan TR, Panga VF (2006). Immunopathological effects of porcine circovirus type 2 (PCV2) on swine alveolar macrophages by in vitro inoculation. *Vet Immunol Immunopathol*, 110 (3-4); 207-219.

Darwich L, Gimeno M, Sibila M, Díaz I, de la Torre E, Dotti S, Kuzemtseva L, Martin M, Pujols J, Mateu E (2011). Genetic and immunobiological diversities of porcine reproductive and respiratory syndrome genotype I strains. *Vet Microbiol*, 150, 49-62.

Donadeu M, Arias M, Gomez-Tejedor C (1999). Using polymerase chain reaction to obtain PRRSV-free piglets from endemically infected herds. *J Swine Health Prod*, 7(6): 255-261.

Doster A, Subramaniam S, Yhee J, Kwon B, Yu C, Kwon S, Osorio F, Sur J (2010). Distribution and characterization of IL-10-secreting cells in lymphoid tissues of PCV2-infected pigs. *J Vet Sci*, 11(3): 177-183.

Flores-Mendoza L, Silva-Campa E, Reséndiz M, Mata-Haro V, Osorio F, Hernández J (2009) Effect of porcine reproductive and respiratory syndrome (PRRS) virus on porcine monocyte-derived dendritic cells. *Vet Mex*, 40 (1): 39-54.

“HALLAZGOS HISTOPATOLÓGICOS E IMPLICACIÓN DEL PCV2, PoRV Y PRRSV EN LECHONES CON DESMEDRO DE GRANJAS DE MÉXICO”

García CAC, Martínez BNR, Amaro GR, Aguirre AFA, Angulo M. Manual de evaluación de la unidad de producción porcina. SAGARPA, INIFAP, CIRPAS. Publicación Especial No. 45. México. (2008). Pp. 20-24.

Gómez-Laguna J, Salguero FJ, Barranco I, Pallarés FJ, Rodríguez-Gómez IM, Bernabé A, Carrasco L (2010). Cytokine expression by macrophages in the lung of pigs infected with the porcine reproductive and respiratory syndrome virus. *J Comp Pathol*, 142, 51-60.

Gómez-Laguna J, Salguero FJ, Pallarés FJ, Carrasco L (2013). Immunopathogenesis of porcine reproductive and respiratory syndrome in the respiratory tract of pigs. *Vet J*, 195: 148-155.

Grau-Roma L, Hjulsager CK, Sibila M, Kristensen CS, López-Soria S, Enoe C, Casal J, Botner A, Nofrarias M, Bille-Hansen V, Fraile L, Baekbo P, Segalés J, Larsen LE (2009). Infection, excretion and seroconversion dynamics of porcine circovirus type 2 (PCV2) in pigs from post-weaning multisystemic wasting syndrome (PMWS) affected farms in Spain and Denmark. *Vet Microbiol*, 135, 272-282.

Grau-Roma L, Fraile L, Segalés J (2012). Recent advances in the epidemiology, diagnosis and control of diseases caused by porcine circovirus type 2. *Vet J*, 187 (2011) 23–32.

Grossberg AJ, Scarlett JM, Marks DL (2010). Hypothalamic Mechanisms in Cachexia. *Physiol Behav*. 100(5): 478–489.

Ha Y, Lee YH, Ahn KK, Kim B, Chae C (2008). Reproduction of postweaning multisystemic wasting syndrome in pigs by prenatal porcine circovirus 2 infection and postnatal porcine parvovirus infection or immunostimulation. *Vet Pathol*, 45: 842-848.

“HALLAZGOS HISTOPATOLÓGICOS E IMPLICACIÓN DEL PCV2, PoRV Y PRRSV EN LECHONES CON DESMEDRO DE GRANJAS DE MÉXICO”

Halbur PG, Paul PS, Frey ML, Landgraf J, Eernisse K, Meng XJ, Lum MA, Andrews JJ, Rathje JÁ (1995). Comparison of the pathogenicity of two US porcine reproductive and respiratory syndrome virus isolates with that of the Lelystad virus. *Vet Pathol*, 32, 648-660.

Hamel AL, Lin LL and Nayar GPS (1998). Nucleotide sequence of porcine circovirus associated with postweaning multisystemic wasting syndrome in pigs. *J Virol*, 72:5262–5267.

Harding JCS and Clark EG (1997). Recognizing and diagnosing postweaning multisystemic wasting syndrome (PMWS) *J Swine Health and Production*, 5: 201–203.

Heneidi A (2011). Nuevo esquema para la vigilancia epidemiológica de las principales enfermedades porcícolas en México. SAGARPA.

Hu SP, Zhang Z, Liu YG, Tian ZJ, Wu DL, Cai XH, He XJ (2012). Pathogenicity and distribution of highly pathogenic porcine reproductive and respiratory syndrome virus in pigs. *Transbound Emerg Dis*, 60 (4):351-359.

Huang Y, Gauvreau H, Harding J (2012). Diagnostic investigation of porcine periweaning failure-to-thrive syndrome: lack of compelling evidence linking to common porcine pathogens. *J Vet Diagn Invest*, 24(1):96-106.

James DG (2000). A clinicopathological classification of granulomatous disorders, *Postgrad Med J*, 76: 457-465.

Kim J, Chung HK, Jung T, Cho WS, Choi C, Chae C (2002). Postweaning multisystemic wasting syndrome of pigs in Korea: prevalence, microscopic lesions and coexisting microorganisms, *J Vet Med Sci*, 64:57-62.

“HALLAZGOS HISTOPATOLÓGICOS E IMPLICACIÓN DEL PCV2, PoRV Y PRRSV EN LECHONES CON DESMEDRO DE GRANJAS DE MÉXICO”

King AMQ, Adams JM, Carstens EB, Lefkowitz EJ (2012). 9th Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses. Elsevier, Academic Press, London, UK, pp. 796-805.

Kirkland PD, Sthephano A, Weingartl HM. Chapter 41. Paramyxoviruses. Disease of Swine. 10th Ed. Wiley Blackwell, USA (2012). pp: 572-576.

Martínez LAC, Carrillo GN, Diosdado VF, Córdova LD, Solís HM, Liljeult FF, Flores CR, Castillo R. Búsqueda de anticuerpos contra el rubulavirus porcino (RVP) de La Piedad Michoacán (LPM) en sueros porcinos del sureste y de centro occidente de México. Mem. XXIV Reunión científica-tecnológica forestal y agropecuaria Veracruz y III del trópico mexicano 2011. Xalapa, Ver., 16-19 noviembre 9, pp. 503-506.

Mendoza-Magaña M, Godoy-Martinez DV, Guerrero-Cazares H, Rodriguez-Peredo A, Dueñas-Jimenez JM, Dueñas-JiménezSH, Ramírez-Herrera MA (2007). Blue eye disease porcine rubulavirus (PoRv) infects pig neurons and glial cells using sialo-glycoprotein as receptor. Vet J, 173: 428–436.

Meng XJ (2012). Emerging and Re-emerging Swine Viruses. Transbound Emerg Dis, 85-102.

Ogawa H, Taira O, Hirai T, Takeuchi H, Nagao A, Ishikawa Y, Tuchiya K, Nunoya T, Ueda S (2009). Multiplex PCR and multiplex RT-PCR for inclusive detection of major swine DNA and RNA viruses in pigs with multiple infections. J Virol Methods, 160: 210–214

Mosser DM, Zhang X (2008). Interleukin-10: new perspectives on an old cytokine. Immunol Rev, 226, 205-218.

Opriessnig T, Gauger PC, Faaberg KS, Shen H, Beach NM, Meng XJ, Wang C, Halbur PG (2012). Effect of porcine circovirus type 2a or 2b on infection kinetics and pathogenicity of

“HALLAZGOS HISTOPATOLÓGICOS E IMPLICACIÓN DEL PCV2, PoRV Y PRRSV EN LECHONES CON DESMEDRO DE GRANJAS DE MÉXICO”

two genetically divergent strains of porcine reproductive and respiratory syndrome virus in the conventional pig model. *Vet Microbiol*, 158, pp. 69-81.

Ramírez A, Karriker LA. Chapter 1: Herd evaluation. *Disease of Swine*. 10th Ed. Wiley Blackwell, USA (2012). pp: 5-17.

Ramírez MH, Martínez C, Mercado C, Castillo JH, Hernández J, Segalés J (2007). Porcine circovirus type 2 antibody detection in backyard pigs from Mexico City. *Res Vet Sci*, 83:130-132.

Reséndiz M, Montalvo-Corral M, Flores-Mendoza L, Ramírez-Mendoza H, Segalés, Hernández J (2012). Expresión de citocinas en cerdos co-infectados con circovirus porcino tipo 2 y el virus del síndrome respiratorio y reproductivo porcino. *Vet Mex*, 43 (1): 45-58.

Rima B, Alexander DJ, Billeter MA, et al. (1995). Family Paramyxoviridae. In: Murphy FA, Fauquet CM, Bishop DHL, et al, eds. *Virus Taxonomy: Classification and Nomenclature of Viruses*. Vienna: Springer-Verlag: 265-274.

SAGARPA. Plan Rector Nacional Sistema Producto Porcinos 2006. SAGARPA, Tecnológico de Monterrey, INCA Rural.

SAGARPA. Programa nacional pecuario 2007-2012.

Sánchez-Betancour JI, Santos-López G, Alonso R, Doperto JM, Ramírez-Mendoza H, Mendoza S, Hernández J, Reyes-Leyva J, Trujillo ME (2008). Molecular characterization of the hemagglutinin-neuraminidase gene of porcine rubulavirus isolates associated with neurological disorders in fattening and adult pigs. *Res Vet Sc*, 85: 359–367.

“HALLAZGOS HISTOPATOLÓGICOS E IMPLICACIÓN DEL PCV2, PoRV Y PRRSV EN LECHONES CON DESMEDRO DE GRANJAS DE MÉXICO”

Santos G, Hernández J, Borraz-Argüello TM, Ramírez H, Reyes LJ (2004). Estructura, función e implicaciones patológicas de las proteínas del Rubulavirus porcino. Arch Med Vet, 36 (2): 119-136.

Segalés J, Calsamiglia M, Rosell C, Soler M, Maldonado J, Martín M, Domingo M (2002). Porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV) infection status in pigs naturally affected with post-weaning multisystemic wasting syndrome (PMWS) in Spain. Vet Microbiol, 85, 23–30.

Segalés J, Allan, GM, Domingo M (2005). Porcine circovirus diseases. Anim Health Res Rev, 6(2); 119-142.

Segalés J (2012). Porcine circovirus type 2 (PCV2) infections: Clinical signs, pathology and laboratory diagnosis. V Res, 164: 10-19.

Sierra N, Ramírez R, Mota R (2000). Aislamiento del virus de PRRS en México: Estudio clínico, serológico y virológico. Arch Med Vet, 32:1-9.

Stadejek T, Oleksiewicz MB, Potapchuk D, Podgorska K (2006). Porcine reproductive and respiratory syndrome virus strains of exceptional diversity in Eastern Europe support the definition of new genetic subtypes. J Gen Virol, 87, 1835-1841.

Stephano HA, Gay GM, Ramírez TC (1988). Encephalomyelitis, reproductive failure and corneal opacity (blue eye) in pigs, associated with a paramyxovirus infection. Vet Rec, 122:6-10.

Trujano M, Iglesias G, Segalés J, Palacios JM (2001) PCV-2 from emaciated pigs in Mexico. Vet Rec, 148(25):792.

“HALLAZGOS HISTOPATOLÓGICOS E IMPLICACIÓN DEL PCV2, PoRV Y PRRSV EN LECHONES CON DESMEDRO DE GRANJAS DE MÉXICO”

Tsai YC, Jeng CR, Hsiao SH, Chang HW, Liu JJ, Chang CC, Lin CM, Chia MY, Pang VF (2010). Porcine circovirus type 2 (PCV2) induces cell proliferation, fusion, and chemokine expression in swine monocytic cells in vitro. *Vet Res*, 41(5).

Vlasakova M, Leskova V, Sliz I, Jackova A, Vilcek S (2014). The presence of six potentially pathogenic viruses in pigs suffering from post-weaning multisystemic wasting syndrome. *BMC Vet Res*, 10:221

Wagner AK, Liebler-Tenorio E, Fachinger V, Glaser M, Pesch S, Murtaugh MP, Reinhold P. (2011) Respiratory function and pulmonary lesions in pigs infected with porcine reproductive and respiratory syndrome virus. *Vet J*, 187: 310–319.

Xiao S, Mo D, Wang Q, Jia J, Qin L, Yu X, Niu Y, Zhao X, Liu X, Chen Y (2010). Aberrant host immune response induced by highly virulent PRRSV identified by digital gene expression tag profiling. *BMC Genomics*, 11: 544.

Zhaoa Q, Yanga ST, Wanga JJ, Zhouc J, Xinga SS, Shena CC, Wanga XX, Yuea YX, Songa J, Chena M, Weia YY, Zhoua QP, Daia T, Songa YH (2015). TNF alpha inhibits myogenic differentiation of C2C12 cells through NF- κ B activation and impairment of IGF-1 signaling pathway. *Biochem Biophys Res Commun*, 458(4); 790-795.