



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**



**FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA**

**EVALUACIÓN DEL NIVEL DE PROTECCIÓN BRINDADO POR TRES  
DIFERENTES VACUNAS COMERCIALES, CONTRA EL VIRUS DE PCV2  
EN CERDOS DE 3 A LAS 13 SEMANAS DE EDAD.**

**TESIS**

Que para obtener el título de

**Médico Veterinario Zootecnista**

Presenta

**JUAN ANGEL JAIME VILLAFÑA**

Asesores:

José Iván Sánchez Betancourt

Marco Antonio Herradora Lozano



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

## **Dedicatoria**

Con profundo cariño y agradecimiento dedico este trabajo a mis padres Martina y León, que gracias a su esfuerzo, amor y comprensión constantes logran darme un motivo para superarme todos los días. A mis hermanos Guadalupe, Francisco, Laura, Pepe y Vidal.

A toda mi familia de la Joyita de Villafaña, Salamanca, Guanajuato.

A Marina por su amor y apoyo incondicionales.

A todos mis hermanos del “Real Changoleón”, mi segunda familia.

A todas las personas que me han honrado con su sincera amistad, con quienes he compartido innumerables experiencias a lo largo de la vida y para quienes guardo un profundo aprecio y respeto.

## **Agradecimientos**

A mí querida Universidad Nacional Autónoma de México con enorme apego y amor por mi formación profesional.

A mis “viejitos” Martina y León, que por ellos soy lo que soy. Por enseñarme que no importa de dónde vienes, si no a donde te diriges. Por su amor, comprensión y apoyo incondicionales a lo largo de mi vida.

A toda mi familia por darme animo en los momentos difíciles y respaldo en los momentos que lo he necesitado.

A mis asesores: Dr. Jose Iván Sánchez Betancourt y MPA MVZ Marco Antonio Herradora Lozano, por su paciencia y ayuda para la realización de esta tesis; y por su influencia, determinante en mi orientación hacia la producción porcina.

A mi mentor y amigo: MC MVZ Raul Gonzalez, por su confianza y apoyo incondicionales; pilares en mi formación profesional. A todo el equipo de la unidad de negocios de cerdos de Zoetis®: Carla, Dany, Sandy, Hilda, Hector, Demian, Juanito, Arturo, Daniel, Rodrigo, Jorge B., Lupillo y Ray.

A mis amigos y colegas de la “Banda Marrana”: Eva, Jess, Cinthya, Pam, Iris, Obi, Vick, Abraham, Rolas, Güero y Adrian. A mis profesores del departamento de cerdos a quienes agradezco todos los conocimientos que me transmitieron.

A la MVZ Marion Galindo por sus enseñanzas de estadística. A la MVZ Mariana Garcia por el apoyo desinteresado hacia mi persona, en cuestiones administrativas. A la MVZ Yesenia Menera por su amistad y compañerismo que siempre tengo presentes.

A mi honorable jurado por su comprensión y darme todas las facilidades para continuar con este proyecto hasta el final.

# ÍNDICE

<b>RESUMEN .....</b>	<b>1</b>
<b>INTRODUCCIÓN.....</b>	<b>2</b>
<i>Características de los Circovirus Porcinos.</i> .....	3
<i>Taxonomía</i> .....	3
REPLICACIÓN .....	5
CLASIFICACIÓN DE LOS CIRCOVIRUS.....	6
<i>Patogénesis de PCV2</i> .....	6
ENFERMEDADES ASOCIADAS AL PCV2 .....	7
<i>Síndrome multisistémico de deterioro posdestete</i> .....	7
CARACTERÍSTICAS ASOCIADAS A INFECCIONES POR PCV2 .....	9
<i>Infección subclínica de PCV2</i> .....	9
<i>Infección clínica por PCV2</i> .....	10
DIAGNÓSTICO INTEGRAL.....	12
<i>Diagnóstico de Laboratorio</i> .....	12
PREVENCIÓN Y CONTROL .....	12
<b>HIPOTESIS .....</b>	<b>14</b>
<b>OBJETIVOS.....</b>	<b>15</b>
<b>MATERIAL Y MÉTODOS .....</b>	<b>16</b>
LUGAR.....	16
ANIMALES.....	16
ALOJAMIENTO .....	17
IDENTIFICACIÓN.....	18
VACUNAS.....	21
VARIOS .....	22
INÓCULO.....	23
DESAFÍO .....	23
SACRIFICIO.....	23
MUESTRAS Y MEDICIONES .....	24
REGISTROS .....	28
DISEÑO EXPERIMENTAL: .....	28
VARIABLES DE ESTUDIO .....	30
ANÁLISIS ESTADÍSTICO .....	31
<b>RESULTADOS .....</b>	<b>33</b>
EFECTO DE LOS TRATAMIENTOS EN EL DESEMPEÑO PRODUCTIVO DE LOS GRUPOS EXPERIMENTALES....	33
EFECTO DE LOS TRATAMIENTOS EN LA RESPUESTA INMUNE HUMORAL .....	37
EFECTO DE LOS TRATAMIENTOS EN LAS LESIONES HISTOPATOLÓGICAS .....	41
<i>Atrofia Linfoide</i> .....	41
<i>Linfonecrosis</i> .....	43
<i>Linfadenitis</i> .....	45
EFECTO DE LOS TRATAMIENTOS EN LA VIREMIA.....	46

<b>DISCUSIÓN .....</b>	<b>49</b>
<b>CONCLUSIONES.....</b>	<b>56</b>
<b>BIBLIOGRAFÍA.....</b>	<b>57</b>

## ÍNDICE DE CUADROS

CUADRO 1. TERMINOLOGÍA DE LAS EAPCV2 .....	10
CUADRO 2. CRITERIOS DE DIAGNÓSTICO DEL PCV2 .....	12
CUADRO 3. CONFORMACIÓN DE LOS GRUPOS EXPERIMENTALES .....	18
CUADRO 4. MUESTRAS Y MEDICIONES OBTENIDAS.....	25
CUADRO 5. PROCESAMIENTO DE MUESTRAS .....	27
CUADRO 6. DISEÑO EXPERIMENTAL .....	29
CUADRO 7. ANDEVA MONO FACTORIAL Y HSD DE TUKEY PARA LAS VARIABLES DE RESPUESTA PESO DE ENTRADA, PESO DE SALIDA Y GDP. DIFERENCIA ENTRE MEDIAS Y ERROR ESTÁNDAR.....	34
CUADRO 8. PORCENTAJES DE FRECUENCIAS SEROLÓGICAS.....	37
CUADRO 9. PRUEBAS DE JI CUADRADA Y ANÁLISIS DE CONTINGENCIAS ENTRE PORCENTAJES DE POSITIVOS, NEGATIVOS Y SOSPECHOSOS.....	38
CUADRO 10. ATROFIA DE ÓRGANOS LINFOIDES .....	42
CUADRO 11. LINFONECROSIS EN ÓRGANOS LINFOIDES .....	44
CUADRO 12. PORCENTAJE DE LINFADENITIS POR GRUPO EXPERIMENTAL .....	45
CUADRO 13. TÍTULOS VIRALES EN SUERO MEDIANTE PCR RT 1x10 <sup>n</sup> PARTÍCULAS VIRALES/REPLICA.....	46

## ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA 1. FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA - UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO.....	16
FIGURA 2. BLOQUE CARDIOPULMONAR Y MUESTRAS DE TEJIDOS LINFOIDES .....	27
FIGURA 3. COMPARACIÓN DEL PESO PROMEDIO OBTENIDO POR CADA UNO DE LOS GRUPOS EXPERIMENTALES (P<0.05) .....	35
FIGURA 4. COMPARACIÓN DE LA GDP OBTENIDA POR CADA GRUPO EXPERIMENTAL .....	36
FIGURA 5. PORCENTAJE DE ANIMALES POSITIVOS, NEGATIVOS Y SOSPECHOSOS POR TRATAMIENTO A LA PRUEBA DE ELISA- PCV2 .....	40
FIGURA 6. ATROFIA LINFOIDE POR GRUPO EXPERIMENTAL.....	42
FIGURA 7. PORCENTAJE DE LINFONECROSIS DE BAZO, TONSILA Y LINFONODOS POR GRUPO EXPERIMENTAL .....	44
FIGURA 8. LINFADENITIS EN LOS GRUPOS EXPERIMENTALES.....	45
FIGURA 9. GRAFICA DE COMPORTAMIENTO DE LA VIREMIA EN SUERO DE LOS GRUPOS EXPERIMENTALES POR PCR RT 1x10 <sup>n</sup> REP/ML .....	47
FIGURA 10. COMPORTAMIENTO DE LA EXCRECIÓN DEL PCV2 MEDIANTE PCR RT EN FLUIDOS NASALES, EN LOS GRUPOS EXPERIMENTALES.....	48

## RESUMEN

JUAN ANGEL JAIME VILLAFANÍA. Evaluación del nivel de protección brindado por tres diferentes vacunas comerciales, contra el virus de PCV2 en cerdos de 3 a las 13 semanas de edad (bajo la dirección de: M.V.Z. M.Sc. Dr. José Ivan Sánchez Betancourt y M.V.Z. M.P.A. Marco Antonio Herradora Lozano).

Los objetivos del presente estudio fueron evaluar el desempeño de tres vacunas comerciales para PCV2, en un modelo vacunación-desafío dentro de instalaciones experimentales controladas. Un total de 54 cerdos, de 3 semanas de edad fueron identificados, distribuidos y utilizados aleatoriamente en 7 grupos experimentales; los tratamientos fueron: a) Foster® 2 mL (1 Dosis – 2 mL – 3 Semanas), b) Circoflex® (1 Dosis – 2 mL – 3 Semanas), c) Circuvent® (2 Dosis – 2 mL – 3 & 6 Semanas), d) Foster® 1 mL (2 Dosis – 1 mL – 3 & 6 Semanas), e) No Vacunado – No Desafiado, f) No Vacunado – Desafiado y g) No Vacunado – Desafiado – Inmunosuprimido; los 6 grupos desafiados fueron inoculados con 2 mL I.M. y 1 mL intranasal de una cepa altamente virulenta de PCV2 (TCID<sub>50</sub>/1x10<sup>7</sup> partículas virales infectantes/mL).

Se observó una diferencia estadística en las variables de peso de salida y ganancia diaria de peso (GDP), con ventaja significativa ( $p < 0.05$ ) para el grupo No Vacunado – No Desafiado, los grupos vacunados y el No Vacunado – Desafiado en contraste con el grupo No – Vacunado – Desafiado – Inmunosuprimido. Donde la variable GDP del grupo No Vacunado – No Desafiado fue 0.102 kg mayor a la media de los demás grupos.

No se observaron diferencias estadísticas significativas entre los grupos vacunados (Circoflex, Foster y Circumvent) en las variables de GDP y peso de salida, bajo diferentes protocolos de una y dos dosis. Aquellos protocolos de vacunación basados en dos dosis, mostraron diferencias estadísticas en la respuesta inmune humoral cuantificada mediante la prueba de ELISA, en comparación con aquellos de una dosis y los grupos no vacunados.

## INTRODUCCIÓN

En 1974<sup>1</sup>, se descubrió un virus contaminante en la línea celular de riñón de cerdo PK-15, morfológicamente similar a los picornavirus. Este virus tenía una cadena simple de ácido desoxirribonucleico (ADN) circular; por sus características de su genoma se le denominó circovirus porcino (PCV)<sup>2</sup>. Aunque serológicamente se demostró la existencia de anticuerpos específicos contra PCV en cerdos, no había una enfermedad que se le pudiera atribuir a la infección por este virus y por consiguiente se le consideró no patógeno<sup>3,4,5</sup>.

Sin embargo, en 1997 fue detectado un virus parecido al PCV en tejidos de cerdos que sufrían una enfermedad emergente nombrada “Síndrome Multisistémico de Deterioro Postdestete” (SMDP). Este virus recién descubierto era antigénicamente semejante al PCV, con el 80% de similitud en la secuencia de nucleótidos con PCV; consecuentemente el PCV del cultivo celular PK-15 fue llamado PCV1 y el virus recientemente aislado se llamó PCV2<sup>6</sup>.

### **Características de los Circovirus Porcinos.**

#### ***Taxonomía***

Los virus ADN se clasifican en 6 familias diferentes, siendo encontradas solo dos de ellas en vertebrados: *Parvoviridae* y *Circoviridae*. La familia *Circoviridae* se divide en dos géneros *Circovirus* (*Circo* indica que el genoma viral tienen una conformación circular) y *Gyrovirus* (*Gyro* es una derivación de la palabra griega *gyrus* que quiere decir anillo o circuito). El género *Circovirus* contiene las siguientes especies: el virus de enfermedad del pico y de la pluma (BFDV), circovirus del canario, circovirus del ganso, circovirus de la paloma, PCV1 y PCV2

y provisionalmente circovirus del pato, circovirus del pinzón, y circovirus de la gaviota. El género del *Gyrovirus* solo contiene al virus de la anemia de la gallina. (CAV).

### ***Características morfológicas y físicas***

El PCV2, es uno de los virus más pequeños, de 17 nm de diámetro, icosaédricos, sin envoltura <sup>2</sup>, y cadena sencilla de ADN circular <sup>7</sup>. Los circovirus son resistentes a inactivarse en: pH de 3 <sup>5</sup>, a temperaturas menores a 80 °C <sup>8</sup> y desinfectantes comerciales a base de alcohol, yodo, clorhexidina o fenol; sin embargo pueden ser inactivados por desinfectantes alcalinos como el hidróxido de sodio, los agentes oxidantes y los cuaternarios de amonio.

### ***Organización genómica***

El circovirus porcino cuenta con un genoma circular covalentemente cerrado de 1,758 – 1,760 nucleótidos para PCV1 <sup>9</sup> y 1,767 – 1,768 nucleótidos para PCV2 <sup>6</sup>. El genoma de los circovirus cuenta con 11 marcos de lectura abiertos u *ORF*'s que están encargados de la expresión de proteínas virales. En la actualidad la expresión de proteínas solo ha sido descrita en 3 *ORF*'s.

El *ORF1* codifica para la proteína conservada *Rep* asociada a la replicación y su marco empalmado alternamente al de las proteínas *Rep* ' <sup>10</sup>. *Rep* y las proteínas *Rep*' tienen un 86% y 80% de similitud de aminoácidos entre PCV1 y PCV2, respectivamente <sup>6</sup>. A pesar de estas diferencias, la *Rep* y las proteínas de *Rep*' son funcionalmente intercambiables entre PCV1 y PCV2 <sup>10</sup>. El *ORF2* codifica la proteína estructural menos conservada o de la cápside. Las proteínas de la

cápside tienen aproximadamente un 66% de identidad entre PCV1 y PCV2 <sup>7</sup>. El *ORF3* se ha asociado recientemente con el desarrollo de apoptosis *in vitro* y la patogénesis viral *in vivo* <sup>11, 12</sup>, sin embargo estos datos son controversiales debido a que no han podido ser repetidos por otros investigadores.

### ***Replicación***

Después de la infección de una célula huésped, la ADN-polimerasa de la célula huésped convierte el ADN viral monocatenario en una doble cadena de replicación intermedia de ADN. Posteriormente, son expresadas las proteínas *Rep* y *Rep'* en la célula, ambas se unen al ADN de doble cadena de replicación intermedia (*Ori*). *Rep* y *Rep'* no se unen con el ADN viral monocatenario <sup>13</sup>. Después de la unión de las proteínas de la replicasa al ADN de doble cadena, se expone el nucleótido perteneciente a una de las cadenas de la doble cadena de ADN viral de replicación intermedia. Posteriormente, las proteínas de la replicasa viral rompe la cadena de ADN creando 2 extremos libres de la cadena de ADN viral <sup>14</sup>. Uno de los extremos de la cadena de ADN viral sirve como punto de inserción para la replicación del ADN por la ADN-polimerasa celular.

Durante la replicación, la hebra original de ADN viral es desplazada por una nueva hebra de ADN viral. Después de una ronda de síntesis de ADN, *Rep* y *Rep'* se unen a los dos extremos libres desplazados de la hebra original de ADN viral, así como a los dos extremos libres de la cadena de ADN recién sintetizada <sup>15</sup>. Este proceso libera el ADN viral de una sola cadena. Después de liberar el ADN viral, la replicasa rompe la cadena de ADN viral de replicación recién formado de doble cadena intermedia y la replicación se inicia de nuevo.

### ***Clasificación de los Circovirus***

Se ha propuesto un sistema para clasificar a PCV; el cual consiste en dividir en 2 genotipos al virus: PCV1 y PCV2. Y estos a su vez en 8 subgenotipos, para PCV1: PCV1a, PCV1b y PCV1C y para PCV2: PCV2a, PCV2b, PCV2c, PCV2d y PCV2e<sup>16</sup>. En la nomenclatura europea se utilizan 3 genotipos para clasificar al PCV2 y son: 1, 2 y 3<sup>17</sup>. Para adaptarse a la nomenclatura canadiense<sup>18</sup> el genotipo 1 se llamara PCV2b, el genotipo 2 se llamara PCV2a y el genotipo 3 se llamara PCV2c<sup>19</sup>. A pesar de la existencia de diferentes genotipos, los anticuerpos monoclonales y policlonales reaccionan de manera similar con aislamientos homólogos y heterólogos de PCV2, lo que indica que hay un solo serotipo de PCV2<sup>20, 21, 22</sup>. La infección con PCV2a induce inmunidad protectora contra la infección subsiguiente con PCV2b y viceversa<sup>23, 24</sup>.

### ***Patogénesis de PCV2***

Los cerdos de todas las edades, incluido los que se encuentran en etapa embrionaria son susceptibles a las infecciones por PCV2 y la principal vía de infección es la oro-nasal. Los sitios primarios de replicación viral aún son desconocidos, pero existen indicios de que los principios de la replicación se dan en la parte distal del intestino delgado (íleon); además de colon, ciego y linfonodos mesentéricos, así como en las amígdalas<sup>24</sup>. A partir de 7 días después de la infección (*dpi*), se presenta una viremia de larga duración, lo que resulta en la propagación de PCV2 hacia una amplia gama de órganos linfoides y no linfoides<sup>25</sup>, incluyendo el aparato reproductor de hembra y macho<sup>26</sup>. Los análisis morfológicos muestran que los antígenos de PCV2 se detectan principalmente en

monocitos y en menor grado en los enterocitos, neumocitos, epitelios bronquiales y bronquiolares, en los ductos biliares y pancreáticos, en el epitelio tubular renal, hepatocitos, linfocitos, células de musculo estriado y liso, fibroblastos, neuronas y células endoteliales vasculares <sup>27</sup>. En los fetos, el corazón es el principal órgano blanco de infección por PCV2, ya que los antígenos se observaron principalmente en los cardiomiocitos y los macrófagos presentes en el corazón, aunque este no es el único ya que también se encontraron en hepatocitos y macrófagos hepáticos; con ello se demuestra que los monocitos son las células blanco presentes en los órganos linfoides y los no linfoides <sup>28</sup>.

A los 14 días *dpi*, la cantidad de virus circulante disminuye en la mayoría de los cerdos inoculados. Esta reducción coincide con la aparición de anticuerpos específicos contra PCV2 <sup>29</sup>; y específicamente, anticuerpos neutralizantes <sup>30</sup>. Existen indicios que la respuesta inmune de tipo celular contribuye al control de la infección por PCV2. Los cerdos con altos niveles de INF- $\gamma$  en las células mononucleares de sangre periférica (CMSP) son menos susceptibles a la replicación de PCV2 <sup>30</sup>.

### ***Enfermedades asociadas al PCV2***

#### Síndrome multisistémico de deterioro posdestete

##### *Epidemiología*

El SMDP es una enfermedad multifactorial que afecta a los cerdos destetados. El agente causal del SMDP es PCV2, sin embargo la mayoría de estas infecciones son sub-clínicas. Los primeros casos fueron reportados al oeste de Canadá en el

año de 1991 <sup>31</sup>. Desde finales de los años 90, una epidemia de SMDP se extendió a lo largo y ancho del mundo y hoy en día es reconocida como una enfermedad endémica en la mayoría de los países de norte y sur América, Europa y Asia. Recientemente, el SMDP también se ha diagnosticado en el sur de África y Nueva Zelanda <sup>32</sup>. Desde finales de 2005, las granjas afectadas en los Estados Unidos de Norteamérica (EE.UU.), han presentado tasas variables de mortalidad en el área de crecimiento que van desde 10% hasta un 40%. En piaras con SMDP la morbilidad varía entre 4 – 30% y las tasas de mortalidad se encuentran entre un 70 – 80% <sup>33</sup>. El virus PCV2 ha sido detectado en la cavidad nasal, tonsilas, secreciones bronquiales, salivares, oculares, heces y orina, por lo que el virus puede eliminarse por todas las vías de secreción. Sin embargo la ruta más importante de infección y trasmisión es la oro – nasal <sup>26</sup>.

#### *Presentación clínica y patología de la enfermedad*

- Signología: El SMDP es una enfermedad que afecta a cerdos entre las 5 – 14 semanas de edad y se caracteriza por un grave retraso en el crecimiento, pérdida de peso y la muerte. Dentro de los signos clínicos se incluyen disnea, polipnea, diarrea, palidez, linfadenomegalía e ictericia.
- Lesiones macroscópicas: Los hallazgos anatomopatológicos se observan en linfonodos, pulmón, bazo, riñones, estomago, hígado, tonsilas e intestino. Se observa aumento de tamaño de los linfonodos superficiales y/o viscerales; al corte presentan una coloración blanca grisácea homogénea y en ocasiones pueden presentar focos blanquecinos <sup>34</sup>. Hay ausencia de colapso pulmonar con un marcado patrón lobulillar y/o zonas de

consolidación en lóbulos craneales y medio, al corte se observa exudado catarral en los bronquios. Los riñones pueden estar aumentados de volumen con una coloración pálida y focos blanquecinos múltiples distribuidos en parénquima y corteza <sup>35</sup>. El hígado disminuye de tamaño y puede mostrar coloración pálida amarillenta del parénquima hepático. El bazo aumenta de tamaño en etapas tempranas de la enfermedad para después disminuir de tamaño <sup>36</sup>.

- Lesiones microscópicas: Se observa una infiltración linfohistiocitaria granulomatosa intersticial en la mayoría de los órganos afectados <sup>37</sup>. Linfopenia y una intensa infiltración celular histiocítica y/o de células multinucleadas gigantes en tejido linfoide. Se observan cuerpos de inclusión intracitoplasmáticos en células del linaje de los monocitos. La atrofia afecta de igual forma a los linfocitos T CD4 y CD8, linfocitos T y linfocitos B en los tejidos linfoides; consecuentemente el número de linfocitos T y B circulantes se reduce <sup>38</sup>.

### ***Características asociadas a infecciones por PCV2***

#### **Infección subclínica de PCV2**

Basándose en estudios serológicos en Norte y Sudamérica, Europa y Asia; y de Sudáfrica (Drew et al., 2004) y Nueva Zelanda (Neumann et al., 2007), las infecciones por PCV2 pueden ser consideradas cosmopolitas <sup>39</sup>. La presentación subclínica de la enfermedad tiene una mayor prevalencia con respecto a la

presentación clínica. Incluso sin presencia de signos clínicos manifiestos, es posible evidenciar que la vacunación contra PCV2 es capaz de mejorar los parámetros productivos en cerdos para abasto (ganancia diaria de peso, porcentaje de retrasados, condición corporal y peso de la canal) de granjas con escenarios de infección subclínica <sup>40</sup>.

### **Infección clínica por PCV2**

Varios síndromes clínicos han sido relacionados con la infección por PCV2. Dentro de las enfermedades asociadas al PCV2 (EAPCV2) se encuentran el SMDP y otras condiciones patológicas:

- Síndrome de nefritis-dermatitis porcina <sup>41</sup>
- Síndrome de falla reproductiva <sup>42</sup>
- Síndrome de neumonía necrotizante y proliferativa <sup>43</sup>
- Síndrome de enfermedad respiratoria <sup>44</sup>
- Síndrome de enteritis <sup>45</sup>

En el cuadro 1 se tienen todas las condiciones clínicas que fueron referidas inicialmente como EAPCV2. (Cuadro 1)

### **Cuadro 1. Terminología de las EAPCV2**

<b>Terminología y/o Nombre Propuesto</b>	<b>Principales Signos Clínicos</b>	<b>Criterios Individuales de Diagnóstico</b>
<b>Infección subclínica por PCV2.</b>	Disminuye la ganancia diaria de peso (GDP), sin presencia	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. La falta de signos clínicos manifiestos.</li> <li>2. Ausencia o mínima presencia de lesiones histopatológicas en los tejidos afectados, principalmente tejido linfoide.</li> </ol>

	alguna de signos clínicos.	3. Disminuida presencia del virus en los tejidos afectados. Los criterios 2 y 3 pueden ser remplazados fácilmente por pruebas de PCR estándares.
<b>Síndrome Multisistémico de Deterioro Posdestete.</b>	Deterioro, pérdida de peso, disminución en la tasa de ganancia diaria de peso y aumento de la conversión alimenticia.	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Pérdida de peso y palidez en mucosas y piel. Los signos clínicos respiratorios o digestivos pueden hacerse latentes.</li> <li>2. De moderada a severa atrofia linfoide con inflamación granulomatosa en los tejidos linfoides.</li> <li>3. De moderada a alta presencia de PCV2 en tejidos afectados.</li> </ol>
<b>Síndrome de Enfermedad Respiratoria y/o Neumonía Necrotizante y Proliferativa.</b>	Dificultad al respirar y disnea.	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Signos clínicos respiratorios.</li> <li>2. Bronco-Neumonía Intersticial, Fibroplasia Peribronquiolar y Bronquiolitis Ulcerosa o Proliferativa Necrotizante.</li> <li>3. De moderada a alta cantidad de PCV2 en el pulmón.</li> </ol>
<b>Síndrome de Enteritis</b>	Diarrea	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Diarrea.</li> <li>2. Enteritis granulomatosa y atrofia linfoide en las placas de Peyer, pero no en otros tejidos linfoides.</li> <li>3. De moderada a alta presencia de PCV2 en la mucosa intestinal.</li> </ol>
<b>Síndrome de Enfermedad Reproductiva.</b>	PCV2 asociado falla reproductiva. Abortos y momificaciones.	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Falla reproductiva en etapas avanzadas de la gestación.</li> <li>2. Miocarditis fibrosa o necrotizante, en los fetos.</li> <li>3. De moderada a alta cantidad de PCV2 en tejidos fetales.</li> </ol>
<b>Síndrome de nefritis-dermatitis porcina.</b>	Pápulas oscuras y maculas rojas en la piel, principalmente en los miembros posteriores y en la zona perineal.	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Lesiones cutáneas hemorrágicas y necrotizantes.</li> <li>2. Riñones pálidos con hemorragias petequiales en zona cortical.</li> <li>3. Vasculitis necrotizante sistémica y glomerulonefritis.</li> </ol>

### ***Diagnóstico Integral***

Un cerdo con SMDP se diagnostica usando 3 criterios <sup>36</sup> básicos, los cuales deberán de cumplirse para la confirmación de cualquier cuadro sugerente. En el cuadro 2 se enlistan dichos criterios.

#### **Cuadro 2. Criterios de diagnóstico del PCV2**

1.- Sinología clínica de la enfermedad, caracterizada por retraso en el crecimiento y/o pérdida de peso.
2.- Lesiones histopatológicas, caracterizadas por atrofia linfoide junto con un infiltrado linfohistiocítico o inflamación granulomatosa y/o cuerpos de inclusión y/o células gigantes.
3.- Presencia del PCV2 en las lesiones histopatológicas.

### ***Diagnóstico de Laboratorio***

Actualmente se cuenta con técnicas de inmunohistoquímica, hibridación *in situ*, inmunofluorescencia, reacción en cadena de la polimerasa (PCR), aislamiento viral y microscopia electrónica. Los anticuerpos se pueden detectar con pruebas de inmunoperoxidasa en monocapa, inmunofluorescencia indirecta y ELISA.

### ***Prevención y Control***

1. Diagnóstico integral (Signología clínica de la enfermedad, pruebas de laboratorio y presencia del agente en tejidos).
2. Identificación de infecciones concurrentes específicas de la granja, sitio o sistema.
3. Minimizar el efecto de agentes primarios: virus del síndrome respiratorio y reproductivo porcino (PRRS), *Mycoplasma hyopneumoniae*, virus de la influenza porcina (IP) y secundarios: *Actinobacillus pleuropneumoniae*,

*Streptococcus suis*, *Bordetella bronchiseptica*, *Haemophilus parasuis*, *Salmonella choleraesuis* y *Pasteurella multocida* en los animales afectados.

4. Tratamientos específicos contra los agentes secundarios partícipes en el flujo.
5. Sistemás de producción Todo Dentro – Todo Fuera.
6. Limpieza y desinfección de las instalaciones, previas a la introducción de animales.
7. Bienestar animal (ventilación, reacomodos por tamaño, disminuir densidad de población, control de la temperatura ambiental, enriquecimiento ambiental, alimento y agua a libre acceso).
8. Implementación de un programa de vacunación contra PCV2; identificando los animales susceptibles de ser vacunados (pie de cría o línea de producción o ambas). Basado en la presentación clínica de la enfermedad y el estado sanitario de la granja.

### ***Implicaciones productivas de PCV2***

En un meta análisis publicado durante 2010 (Charlotte Sonne Kristensen, 2010), la revisión se restringió a estudios de investigación sobre el efecto de las vacunas para PCV2 en cerdos. Encontrando diferencias estadísticas significativas en la variable ganancia diaria de peso entre animales vacunados y no vacunados. Adicionalmente en animales negativos a PRRS la mortalidad disminuye significativamente en comparación a los positivos. Ninguna diferencia encontrada entre las vacunas comerciales evaluadas.

## **JUSTIFICACIÓN**

El SMDP y las EAPCV2 son un problema severo que afectan a las granjas productoras de cerdo para abasto, debido a que diversos parámetros productivos se ven afectados causando pérdidas económicas importantes. Por esta razón es importante inmunizar oportunamente a los animales contra PCV2, como una medida de control para evitar el desarrollo del síndrome. Actualmente no se reportan datos de comparativos entre las vacunas comerciales contra PCV2 en México, por tal motivo es necesario generar información que permita tomar decisiones adecuadas para controlar la enfermedad mediante la vacunación.

## **HIPOTESIS**

La aplicación de tres vacunas comerciales bajo cuatro esquemas de inmunización a cerdos infectados experimentalmente a las nueve semanas de edad con el virus PCV2, brindarán el mismo grado de protección.

## **OBJETIVOS**

### **General:**

- Comparar clínicamente y por inmunopatología, el grado de protección brindado por tres diferentes vacunas comerciales bajo cuatro esquemas de vacunación, en cerdos infectados artificialmente a las nueve semanas de edad con el virus PCV2.

### **Particulares:**

1. Evaluar el nivel de protección brindado por tres diferentes vacunas, a través de la evaluación de los siguientes parámetros: a) títulos de anticuerpos b) viremia c) lesiones microscópicas y d) ganancia diaria de peso (GDP) de los cerdos en cada grupo experimental entre las 3 y 13 semanas de edad.
2. Comparar la eficacia de cuatro protocolos de vacunación contra PCV-2, empleando tres vacunas comerciales, en la salud y el nivel de viremia de cerdos inoculados artificialmente con PCV-2 a las 9 semanas de vida.

## MATERIAL Y MÉTODOS

### *Lugar*

El presente trabajo fue realizado en las unidades de aislamiento pertenecientes al Departamento de Medicina y Zootecnia de Cerdo (DMZC), en la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia (FMVZ), de la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM). Circuito Exterior S/N, Ciudad Universitaria, Delegación Coyoacán, 04510 Ciudad de México, Distrito Federal. (Figura 1)



**Figura 1.** Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia - Universidad Nacional Autónoma de México

### *Animales*

Fueron seleccionados 54 cerdos (de línea comercial, sanos y completamente al azar) recién destetados de 3 semanas de edad, procedentes del Centro de Enseñanza, Investigación y Extensión en Producción Porcina (CEIEPP) - FMVZ-UNAM ubicado en el Km 2 de la carretera Jilotepec - Corrales, en Jilotepec, Estado de México; los cuales fueron seleccionados y transportados al sitio de

estudio (DMZC-FMVZ-UNAM). Los cerdos pertenecen a la línea de producción, con genética propia del centro; hijos de cerdas de línea materna Yorkshire – Landrace y de padres de línea terminal Pietrain – Duroc (29 hembras y 25 machos). En el CEIEPP no cuentan con ningún protocolo de vacunación contra PCV2 en la línea de producción. No existen registros de signología clínica de PCV2 en los animales de esta granja por tal motivo no son vacunados; sin embargo se encuentran seropositivos a PCV2.

### ***Alojamiento***

A su llegada fueron ubicados en 3 aislamientos equipados con 2 corrales cada uno, dando un total de 6 corrales. Estos contaban con piso de cemento (50% área) y slat plastificado (50% área), las cuales fueron lavados y desinfectados previo a la llegada de los animales. Cada uno se encontraba equipado con 2 bebederos automáticos, 2 tapetes térmicos, 1 lámpara de luz infrarroja y un comedero de 6 bocas; el área de total en cada corral fue de 9 m<sup>2</sup>. Se distribuyeron aleatoriamente 9 cerdos por corral, quedando mezclados cerdos de diferentes grupos experimentales en cada uno de ellos; el espacio vital para cada animal fue de 1 m<sup>2</sup>.

- Agua y alimento: Los animales fueron sometidos a un régimen de libre acceso al agua y alimento. Se utilizaron 3 fases de alimento (pre-iniciador, iniciador y desarrollo) durante su estancia en el estudio.

- **Temperatura:** Los aislamientos contaban con ventilación natural y temperatura controlada (22 °C promedio durante el periodo de estudio). Solo personal autorizado tuvo acceso al aislamiento.
- **Cuidados e intervención veterinaria:** Los animales fueron revisados de 2-3 veces al día, todos los días del estudio. La crianza, la salud y el bienestar de los animales estuvieron a cargo de una Médico Veterinaria Zootecnista y un pasante de Médico Veterinario Zootecnista como auxiliar.

### ***Identificación***

A su llegada los animales fueron identificados individualmente mediante un arete con número. Cada animal representó una unidad experimental y la identificación lo acompañó durante el tiempo total del estudio. Quedando 7 grupos conformados de la siguiente manera (Cuadro 3):

**Cuadro 3. Conformación de los grupos experimentales**

<b>Protocolo</b>	<b># Animales</b>
Fostera 2 mL	8
Circoflex	8
Fostera 1 mL	8
Circumvent	8
No Vacunado - Desafiado	8
No Vacunado - No Desafiado	8
No Vacunado - Desafiado - Inmunosuprimido	6

- **Grupo Control Positivo (No Vacunado-Desafiado):** Los animales de este grupo fueron sometidos a un tratamiento placebo, suministrando dos aplicaciones de SSF: 3 semanas de edad (2 mL) y 6 semanas de edad (2 mL). Con la finalidad de igualar las condiciones de los grupos vacunados. En la semana 9 se desafiaron con el inóculo de PCV2.
- **Grupo Control Negativo (No Vacunado-No Desafiado):** Los animales de este grupo fueron sometidos a un tratamiento placebo, bajo un esquema de dos aplicaciones de SSF IM a la semana 3 y 6 de edad; para equiparar el manejo realizado con los grupos experimentales restantes. Al momento del desafío, los animales fueron trasladados a un edificio separado al de los cerdos que fueron desafiados; para evitar el contagio con el virus del inóculo.. Se montaron medidas de bioseguridad tales como limpieza y desinfección de equipo antes de ser utilizado (báscula, comederos, corrales, overol, botas, etc.) y atención de los animales por una persona distinta a la que prestaba atención a los animales inoculados.
- **Grupo No Vacunado-Desafiado-Inmunosuprimido:** Los animales de este grupo experimental fueron sometidos a un tratamiento inmunosupresor, bajo un protocolo de aplicaciones diarias de dexametasona (0.04 mg/kg). Los animales de este grupo experimental fueron desafiados en la semana 9 junto con todos los demás grupos

experimentales. En ningún momento les fueron suministrados antibióticos de manera metafiláctica.

- **Grupo Fosterera® (1 aplicación):** Los animales de este grupo fueron vacunados en la semana 3 de edad con 2 mL de Fosterera® IM (según la etiqueta del producto); en la semana 6 de edad les fue aplicado 1 mL de SSF como placebo. Todos los animales fueron infectados en la semana 9 con el inóculo de PCV2 desafío.
- **Grupo Fosterera® (2 aplicaciones):** Los animales pertenecientes a este grupo fueron sometidos a un protocolo de vacunación con 1 mL de Fosterera® IM a las 3 y a las 6 semanas de edad, conforme lo indica la etiqueta del producto. Todos los animales fueron infectados en la semana 9 con el inóculo de PCV2 desafío.
- **Grupo Circumvent®:** Los animales de este grupo fueron vacunados conforme lo indica la etiqueta del producto. Dos aplicaciones de 2 mL de Circumvent® IM a las 3 y a las 6 semanas de edad. Todos los animales fueron infectados en la semana 9 con el inóculo de PCV2 desafío.
- **Grupo Circoflex®:** Los animales de este grupo fueron vacunados conforme lo indica la etiqueta del producto; 1 dosis de Circoflex® IM de 2

mL a las 3 semanas de edad. Todos los animales fueron infectados en la semana 9 con el inóculo de PCV2 desafío.

### **Vacunas**

Se utilizaron tres vacunas comerciales:

**Fostera PCV®** (Pfizer Animal Health): Virus quimérico inactivado de PCV1 y PCV2. La mezcla da como resultado PCV1 ORF1 y PCV2 ORF2, envueltos en proteína de la cápside ORF2 de PCV2. Indicada para la vacunación de cerdos sanos de 3 semanas de edad o mayores, aplicando una dosis de 2 mL vía intramuscular. No se exponga a la luz solar. Almacenar entre 2° y 7°C. No congelar. No vacunar dentro de los 21 días previos al sacrificio. Permita que el producto alcance la temperatura ambiente. Agite bien antes de su aplicación. Usar todo el contenido una vez abierto. Incinerar el envase y todo el contenido que no se haya utilizado. Pueden presentarse de manera esporádica reacciones alérgicas. El antídoto es la epinefrina.

**Circoflex®** (Boehringer Ingelheim Vetmedica Ingelvac): Cada dosis de 1 mL de la vacuna inactivada contiene proteína ORF2 de PCV2, en un adyuvante acuoso a base de carbómero. Indicada para la inmunización de cerdos contra PCV2, aplicando una dosis de 1 mL vía intramuscular, a partir de las 2 semanas de edad. Conservar y transportar a una temperatura entre 2°C y 8°C, no exponer a la luz y no congelar. Dejar atemperar antes de la inoculación, utilizar todo el contenido

después de abrir el frasco y no usar después de la fecha de caducidad. Vacunar solo animales sanos.

**Circumvent®** (MSD): Vacuna subunitaria inactivada de PCV2 con vector de baculovirus muerto, contiene Microsol y Diluvac forte como adyuvantes. Indicada para la inmunización de cerdos contra PCV2, aplicando una dosis inicial a partir de las 3 semanas de edad de 2 mL vía intramuscular con un refuerzo 3 semanas después de la primera aplicación 2 mL. Almacenar en un sitio oscuro a una temperatura de entre 2° a 8° C. No congelar. Vacunar solamente animales sanos. Permitir que la vacuna alcance la temperatura ambiente (15°, 25°) antes de ser aplicada. Agitar bien el frasco antes y durante la aplicación. Alternar el sitio de aplicación entre la primera y la segunda dosis. Si se presentan reacciones anafilácticas, tratar con epinefrina. Utilizar jeringas y agujas estériles.

### **Varios**

- **SSF**: Solución salina fisiológica estéril. Utilizada como placebo para equiparar las condiciones de estrés y manejo de los animales que fueron sometidos a protocolos de una aplicación de vacuna, con sus referentes de dos aplicaciones.
- **Dexan-2®**: Dexametasona, 2 mg/mL. Usada como tratamiento inmunosupresor en los animales del grupo No – Vacunado – Desafiado – Inmunosuprimido.
- **Procina®**: Azaperona, 40 mg/mL. Aplicada antes del sacrificio humanitario de los animales como tranquilizante.

- **Enroxil 5%®**: Enrofloxacin, 50 mg/mL. Destinada para el tratamiento de animales enfermos durante el experimento.
- **Formol al 10%**: Utilizado para la conservación de muestras de órganos remitidos a histopatología.

### ***Inóculo***

Se utilizó un virus desafío correspondiente a una mezcla de cepas de PCV-2 altamente virulenta (aisladas en el departamento de Microbiología e Inmunología de la FMVZ-UNAM), libre de otros patógenos como PRRS, Aujeszky, Parvovirus Porcino, Rubulavirus Porcino e Influenza Porcina diagnosticados mediante PCR, el cual se almacenó a -70 °C. Antes del desafío el virus fue descongelado y diluido (título de TCID<sub>50</sub>/1\*10<sup>7</sup> partículas virales infectantes/mL), mediante un PCR-rt (reacción en cadena de la polimerasa tiempo real).

### ***Desafío***

El desafío se llevó a cabo el día 42 del estudio (63 días de edad). Cada cerdo fue inoculado con PCV-2 virus desafío con 2 mL por vía intranasal y 1 mL por vía intramuscular, en la tabla del cuello.

### ***Sacrificio***

Todos los cerdos que participaron en el estudio fueron tranquilizados (2 mg/kg de azaperona vía intramuscular), insensibilizados (mediante electro insensibilización) y sacrificados en el día 70 de estudio. Con el procedimiento que marca la NOM-033-ZOO-1995: Sacrificio humanitario de los animales

domésticos y silvestres. El experimento estuvo conducido por la NOM-062-ZOO-1999: Especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio. El CICUAE (Comité Institucional para el Cuidado y Uso de los Animales Experimentales) aprobó los manejos y métodos a los que fueron sometidos los animales. Aprobado en el dictamen con folio número 421 del mismo.

### ***Muestras y mediciones***

Para la evaluación del desempeño de los grupos experimentales fueron recabadas las siguientes muestras y mediciones (Cuadro 4).

**Cuadro 4. Muestras y mediciones obtenidas**

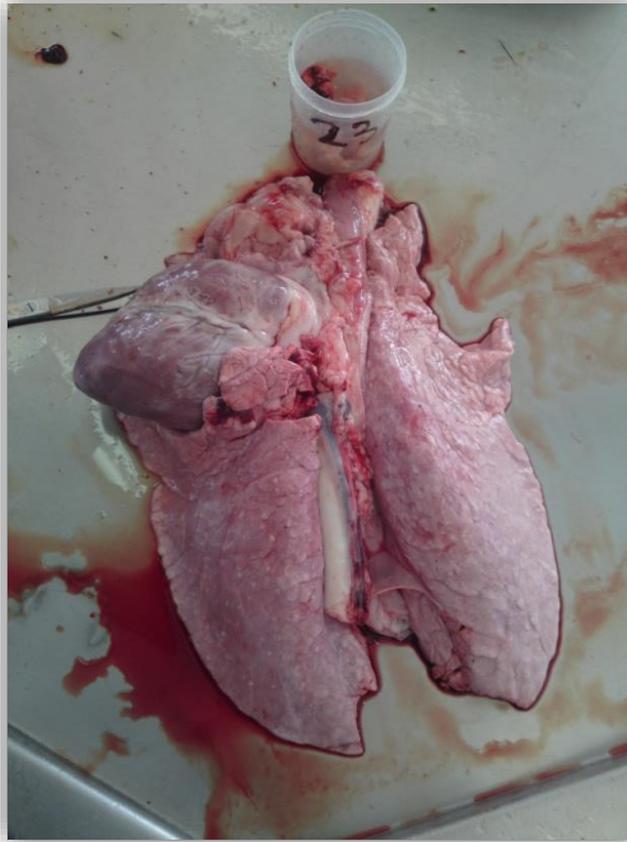
Muestra	Semana 3	Semana 4	Semana 5	Semana 6	Semana 7	Semana 8	Semana 9	Semana 10	Semana 11	Semana 12	Semana 13	Sacrificio
Peso vivo	1 Medida	1 Medida	1 Medida	1 Medida	1 Medida	1 Medida						
Suero	1 Muestra	Cada 4 días	1 Muestra									
Hisopo	NA	NA	NA	NA	NA	NA	Cada 4 días	1 Muestra				
Órganos (Pulmón, Tonsila, Linfonodos y Bazo)	NA	NA	NA	NA	NA	1 Muestra						

**NA: No Aplica**

- **Peso Vivo:** Se efectuó un pesaje semanal a partir de la llegada de los animales (Semana 3 de edad) hasta el sacrificio de los mismos a la (Semana 13 de edad); obteniendo con ello 10 observaciones del peso vivo de cada animal seleccionado para el estudio.
- **Muestras sanguíneas:** Se obtuvieron mediante punción yugular, de manera estéril e identificada al instante del muestreo de cada animal. Posteriormente fueron obtenidas las muestras de suero de cada una de las muestras: fueron centrifugadas (3000 rpm / 5 min), almacenadas en congelación y procesadas en el laboratorio de diagnóstico del DMZC (Cuadro 5). Las pruebas a las que fueron sometidas fueron ELISA y PCR.
- **Hisopos nasales:** Obtenidos durante la sujeción de los animales en el muestreo sanguíneo. Identificados y almacenados en un vial individualmente. Todas fueron procesadas en el laboratorio de diagnóstico del DMZC (Cuadro 5) mediante la prueba de PCR tiempo real.
- **Órganos:** Obtenidos a la necropsia de los animales; las muestras consideradas para el estudio fueron pulmón, tonsilas, linfonodos y bazo (figura 2). Almacenadas inmediatamente en un frasco individual por animal, con formol al 10%. Las muestras se remitieron al departamento de patología de la FMVZ-UNAM (Cuadro 5).

**Cuadro 5. Procesamiento de muestras**

Muestra	Laboratorio	Estudio
Suero	Laboratorio de Diagnóstico DMZC-FMVZ-UNAM	<b>ELISA, PCR rt</b>
Hisopos	Laboratorio de Diagnóstico DMZC-FMVZ-UNAM	<b>PCR rt</b>
Tejidos	Laboratorio de Diagnóstico DP-FMVZ-UNAM	<b>Histopatología</b>



**Figura 2.** Bloque cardiopulmonar y muestras de tejidos linfoides

**Registros**

- Registro de Temperatura: En cada corral se colocó uno de ellos. Se realizaron 2 mediciones al día; mediante un termómetro laser de superficies. Las mediciones se realizaron a las 9:00 y 17:00 hrs.
- Registro de Mortalidad y Necropsias: Los animales muertos durante el transcurso de la prueba y los sacrificados al final de la misma, fueron sometidos a la necropsia con la finalidad de observar las lesiones macroscópicas en los órganos y sistemas.
- Registro de Peso: El pesaje que se obtuvo, quedo asentado en un registro semanal con la identificación individual del animal y su peso.

***Diseño experimental:***

En el siguiente cuadro, se desglosan los manejos, tiempos y eventos a los que fueron sometidos los grupos experimentales; desde el inicio de la prueba hasta el sacrificio de los animales (Cuadro 6).

**Cuadro 6. Diseño experimental**

Grupo	Numero de Cerdos	3 semanas de edad	6 semanas de edad	9 semanas de edad	13 semanas de edad
		(día 0)	(día 21)	(día 42)	(día 70)
		1er Vacunación	2ª Vacunación	Desafío	Sacrificio
<b>Control</b> : No vacunados – Desafiados	8	2 mL SSF	2 mL SSF	Todos los cerdos se desafiaron con PCV-2, a las 9 semanas de edad.	Todos los cerdos fueron tranquilizados, insensibilizados y sacrificados. Se realizó la necropsia correspondiente. Fueron obtenidas muestras de los siguientes órganos: Linfonodos (Inguinales, mesentéricos y retro faríngeos), Tonsilas, Bazo y Pulmón.
<b>Fostera PCV</b>	8	2 mL	1 mL SSF		
<b>Fostera PCV*</b>	8	1 mL	1 mL		
<b>Circoflex**</b>	8	2 mL	1 mL SSF		
<b>Circumvent***</b>	8	2 mL	2 mL		
<b>Control:</b> No vacunado-Desafiado - Inmunosuprimido	6	No	No	Ninguno de los cerdos fue desafiado. Se separaron en otro edificio con estrictas medidas de bioseguridad.	
<b>Control</b> : No vacunado – No desafiado	8	No	No		

### ***Variables de Estudio***

1. Títulos de Anticuerpos: Seguimiento del comportamiento de la inmunidad humoral mediante pruebas de ELISA (PCV2) de todos los grupos experimentales. Las unidades arrojadas en la prueba equivalen a unidades ópticas (OD), las cuales son categorizadas como: positivas, negativas y sospechosas. El análisis de los datos se hizo mediante una prueba de ji cuadrada.
2. Viremia: Evaluación de la cantidad de partículas virales por mililitro presente en suero ( $1 \times 10^6$  partículas virales/mL) mediante PCR rt (PCV2) de todos los grupos experimentales.
3. Peso Promedio de Salida (PPS): Evaluación del desempeño productivo mediante la comparación de medias entre los grupos experimentales. Considerando las covariables Peso de Entrada y Sexo para todos los grupos.
4. Ganancia Diaria de Peso (GDP): Evaluación del desempeño productivo mediante un pesaje cero, pesajes semanales y pesaje final.

Aplicando la siguiente fórmula:

$$(Peso\ final - Peso\ cero) / Días\ de\ Estudio)$$

Considerando las covariables Peso de Entrada y Sexo para todos los grupos.

5. Linfadenitis: Evaluación histopatológica de linfonodos retro faríngeos, mediastínicos e inguinales considerados por su posición craneal, medio y caudal respectivamente. Medido cualitativamente a partir del diagnóstico

elaborado en el estudio microscópico. El análisis de dichas variables se realizó mediante estadística descriptiva.

6. Atrofia linfoide: Evaluación histopatológica de tonsilas, bazo y linfonodos (retro faríngeos, mediastínicos e inguinales), mediante una medición cualitativa obtenida a partir del diagnóstico microscópico y comparada con estadística descriptiva.
7. Linfocrosis: Evaluación histopatológica de tonsilas, bazo y linfonodos (retro faríngeos, mediastínicos e inguinales), mediante una medición cualitativa obtenida a partir del diagnóstico microscópico y comparada con estadística descriptiva para cada uno de los casos.

#### ***Análisis Estadístico:***

Se realizó un ANDEVA mediante el paquete estadístico SAS-JMP para las variables de respuesta peso de salida y ganancia diaria de peso de todos los grupos experimentales, considerando las covariables peso de entrada y sexo para todos los grupos. Aquellas variables donde se encontró diferencias estadísticas significativas fueron sometidas a una prueba de comparaciones múltiples "HSD de Tukey". En el caso de respuesta inmune humoral se analizó mediante una prueba de ji cuadrada. Para el análisis de las variables fueron asignados los siguientes números a cada grupo experimental: 1 (Fostera 2 mL), 2 (Circoflex), 3 (Fostera 1 mL), 4 (Circumvent), 5 (No Vacunado – Desafiado), 6 (No Vacunado – No Desafiado), 7 (No Vacunado – Desafiado – Inmunosuprimido). Para las variables de linfocrosis, linfadenitis y atrofia linfoide se realizó estadística descriptiva para su comparación. Para la variable

viremia se obtuvo una gráfica de comportamiento convergente de todos los grupos experimentales.

## RESULTADOS

### ***Efecto de los tratamientos en el desempeño productivo de los grupos experimentales***

Los pesos de entrada fueron estadísticamente iguales ( $P < 0.05$ ) para todos los grupos experimentales (Cuadro 7). Al incorporar en el análisis los efectos de peso de entrada y sexo, como covariables, solo se observaron diferencias ( $P < 0.05$ ) para las variables peso de salida y GDP, entre el grupo 7 (animales no vacunados y desafiados), respecto al resto de los tratamientos. El grupo de animales No Vacunados – No Desafiados fue el grupo de mayor peso de salida y GDP. En tanto que el grupo No Vacunado – Desafiado – Inmunosuprimido mostraron una diferencia significativa en comparación con el grupo de mayor peso y mejor GDP ( $P < 0.05$ ). El peso promedio de los animales del grupo experimental No Vacunado – No Desafiado fue de 44.011 kg, el cual fue 22.851 kg superior al grupo No Vacunado – Desafiado – Inmunosuprimido quienes registraron un peso promedio de 21.160 kg en promedio. (Cuadro 7).

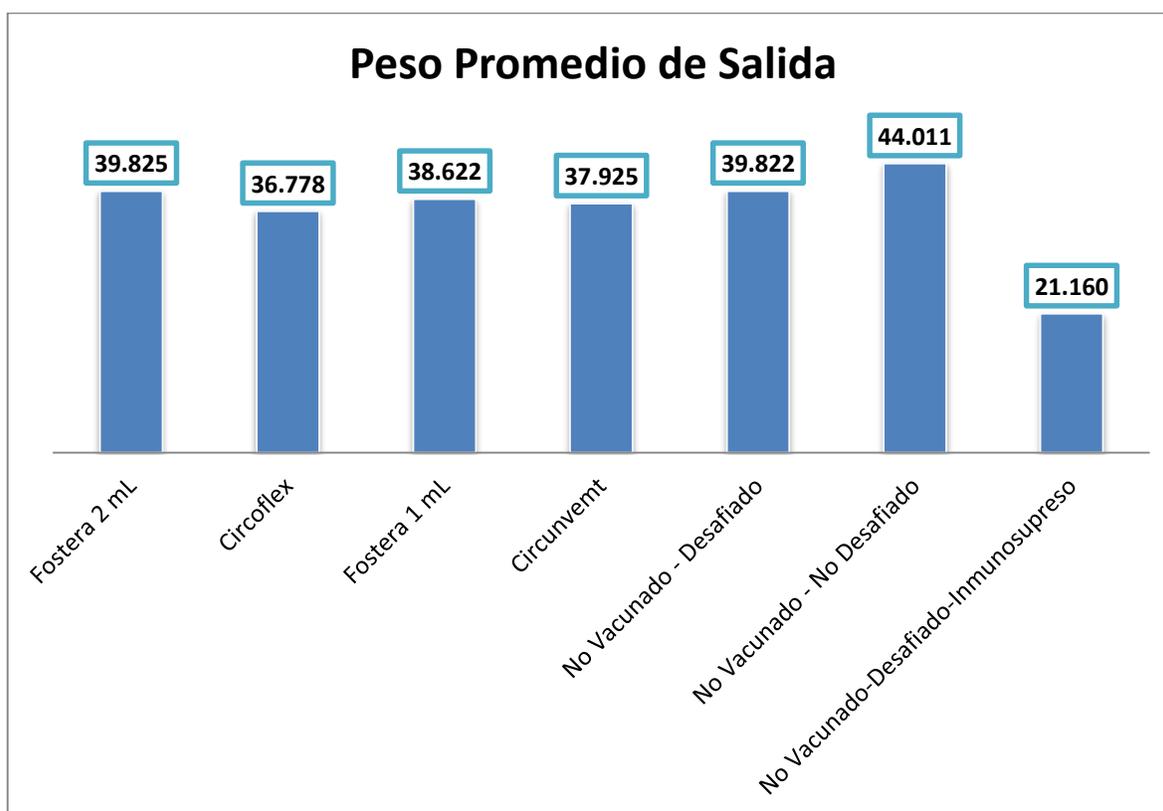
**Cuadro 7. ANDEVA mono factorial y HSD de Tukey para las variables de respuesta peso de entrada, peso de salida y GDP. Diferencia entre medias y error estándar.**

Peso de entrada					
Tratamiento	Media Cuadrática	Error Estándar	Media	Nivel	p=
4	5	0.2304	5	A	0.9912
5	4.933	0.2172	4.93	A	
6	4.911	0.2172	4.91	A	
1	4.888	0.2172	4.88	A	
7	4.88	0.2914	4.88	A	
3	4.866	0.2172	4.86	A	
2	4.733	0.2172	4.73	A	

Tratamiento	Peso Ganado			Peso de salida			Nivel	p=
	Media Cuadrática	Error Estándar	Media	Media Cuadrática	Error Estándar	Media		
6	39.1123	1.6266	39.1	44.0043	1.6779	44.0111	A	<0.0001
1	34.9001	1.6266	34.9778	39.8598	1.6779	39.8667	A	
5	34.9012	1.6266	34.8889	39.8154	1.6779	39.8222	A	
3	33.7432	1.6263	33.7556	38.629	1.6779	38.6222	A	
4	32.8694	1.7545	33.925	37.9556	1.8097	37.925	A	
2	32.0567	1.6266	32.0444	36.7709	1.6779	36.7778	A	
7	16.3022	2.1841	16.28	21.1477	2.2529	21.16	B	

1 (Fostera 2 mL), 2 (Circoflex), 3 (Fostera 1 mL), 4 (Circumvent), 5 (No Vacunado – Desafiado), 6 (No Vacunado – No Desafiado), 7 (No Vacunado – Desafiado – Inmunosuprimido).

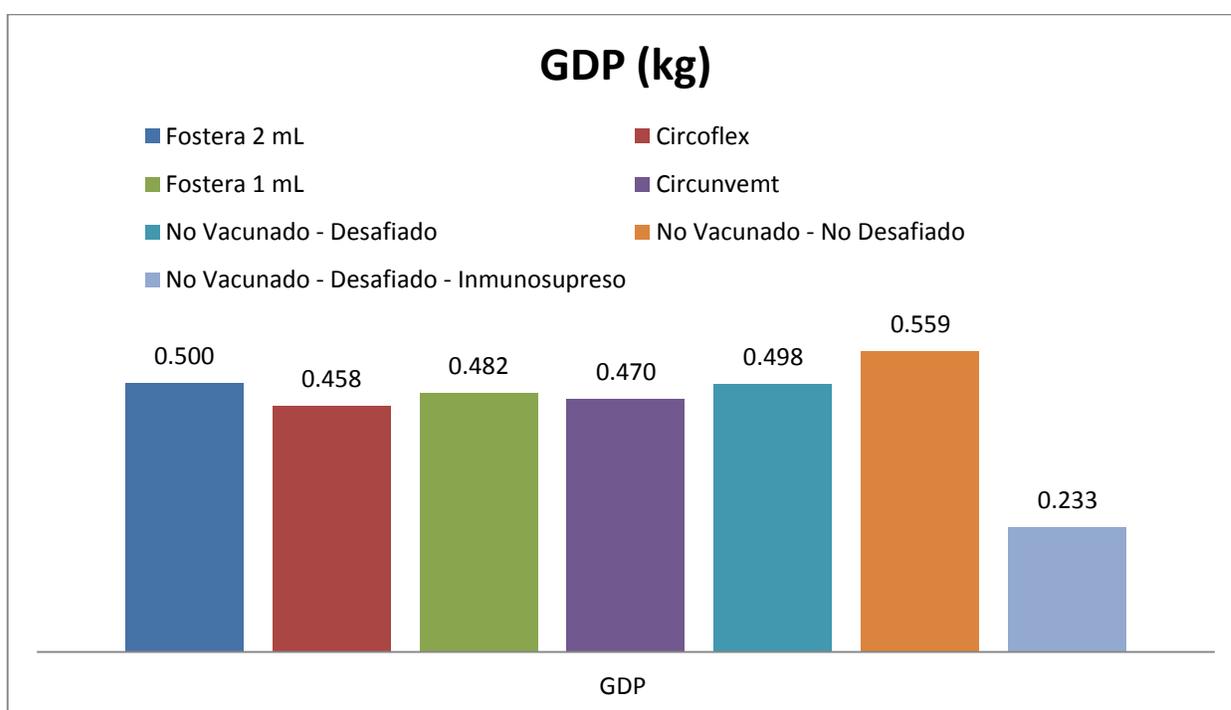
El decremento en el crecimiento de los animales del grupo No Vacunado – Desafiado – Inmunosuprimido se reflejó en un porcentaje de -42.62% con respecto a la media entre grupos y el grupo No Vacunado – No Desafiado demostró un porcentaje de +19.34% con respecto a la media entre grupos que es de 36.87 kg. (Figura 3).



**Figura 3.** Comparación del peso promedio obtenido por cada uno de los grupos experimentales ( $p < 0.05$ )

El grupo experimental No Vacunado – Desafiado – Inmunosuprimido en su desempeño productivo mostró un retraso en el crecimiento, afectando con ello la GDP y peso promedio de salida. Viéndose superado por todos los demás grupos experimentales; el más cercano en orden ascendente fue el grupo Circoflex. Al encontrar significancia en el análisis de la varianza ( $P < 0.05$ ), los grupos

experimentales fueron sometidos a una prueba de comparaciones múltiples “HSD de Tukey” para determinar aquellos tratamientos entre los cuales existe diferencia estadística. Para ello se eliminaron las covariables peso de entrada y sexo. Mientras menor sea el peso promedio de salida de los grupos experimentales, menor será su GDP. Partiendo de que los pesos promedio de entrada fueron iguales estadísticamente, mediante el ANDEVA. La GDP en cada grupo experimental se encuentra en la Figura 4.



**Figura 4.** Comparación de la GDP obtenida por cada grupo experimental

\*GDP: Ganancia Diaria de Peso.

La media poblacional de GDP fue de 0.457 kg para todos los tratamientos; el grupo No Vacunado – No Desafiado tuvo un porcentaje de + 22.31% o (0.102 kg) sobre la media, siendo así el grupo que mejor respondió a la variable. El grupo No Vacunado – Desafiado – Inmunosuprimido mostró una disminución de 49.02% con respecto a la media. A raíz de dicha diferencia se puede aseverar que al menos un

tratamiento (No Vacunado – Desafiado – Inmunosuprimido) es diferente contrastado con el resto de los grupos experimentales.

La inmunosupresión y el desafío en los individuos del grupo 7 reflejaron un efecto negativo en todas las variables productivas como se mostró en el (Cuadro 7).

### **Efecto de los tratamientos en la respuesta inmune humoral.**

El porcentaje de animales positivos, negativos y sospechosos por grupo se encuentra descrito en el (Cuadro 8).

### **Cuadro 8. Porcentajes de frecuencias serológicas**

<b>Protocolo</b>	<b>Negativos</b>	<b>Positivos</b>	<b>Sospechosos</b>
Fostera 2 mL	47.86%	42.74%	9.40%
Circoflex	62.39%	32.48%	5.13%
Fostera 1 mL	16.24%	81.20%	2.56%
Circumvent	10.58%	83.65%	5.77%
No Vacunado - Desafiado	62.39%	34.19%	3.42%
No Vacunado - No Desafiado	66.67%	25.64%	7.69%
No Vacunado - Desafiado - Inmunosuprimido	70.77%	24.62%	4.62%

El cuadro muestra los porcentajes de animales negativos, positivos y sospechosos globales por grupo, mediante la prueba de ELISA.

Los resultados pruebas de ji cuadrada y de análisis de contingencias muestran un comportamiento similar en los primeros tres muestreos. (Cuadro 9)

**Cuadro 9. Pruebas de ji cuadrada y análisis de contingencias entre porcentajes de positivos, negativos y sospechosos**

		ELISA 1	ELISA 2	ELISA 3	ELISA 4	ELISA 5	ELISA 6	ELISA 7	ELISA 8	ELISA 9	ELISA 10	ELISA 11	ELISA 12	ELISA 13	
Fostera 2 mL	% (+)	44.44	33.33	33.33	33.33	44.44	44.44	33.33	66.66	44.44	44.44	33.33	66.66	66.66	
	%(-)	33.33	66.66	66.66	66.66	44.44	11.11	55.55	22.22	55.55	22.22	66.66	22.22	33.33	
	%(+/-)	22.22	0	0	0	11.11	33.33	11.11	11.11	0	33.33	0	11.11	0	
Circoflex	% (+)	22.22	22.22	88.88	55.55	33.33	22.22	44.44	44.44	33.33	33.33	33.33	33.33	44.44	
	%(-)	55.55	55.55	11.11	44.44	66.66	0	55.55	44.44	55.55	55.55	66.66	66.66	55.55	
	%(+/-)	22.22	11.11	0	0	0	77.77	0	11.11	11.11	11.11	0	0	0	
Fostera 1 mL	% (+)	44.44	22.22	55.55	100	100	44.44	100	100	100	100	77.77	100	88.88	
	%(-)	44.44	66.6	44.44	0	0	11.11	0	0	0	0	22.22	0	11.11	
	%(+/-)	11.11	11.11	0	0	0	44.44	0	0	0	0	0	0	0	
Circumvent	% (+)	62.5	25	62.5	100	100	62.5	100	100	100	100	88.88	100	87.5	
	%(-)	37.5	62.5	25	0	0	12.5	0	0	0	0	0	0	12.5	
	%(+/-)	0	12.5	12.5	0	0	25	0	0	0	0	11.11	0	0	
No Vacunado Desafiado	% (+)	44.44	22.22	55.55	55.55	33.33	33.33	44.44	33.33	33.33	33.33	22.22	11.11	0	
	%(-)	55.55	66.66	44.44	44.44	66.66	22.22	55.55	66.66	66.66	66.66	44.44	77.77	88.88	100
	%(+/-)	0	11.11	0	0	0	44.44	0	0	0	22.22	0	0	0	
No Vacunado No Desafiado	% (+)	11.11	0	44.44	44.44	44.44	66.66	11.11	22.22	22.22	11.11	33.33	0	0	
	%(-)	66.66	100	55.55	55.55	55.55	11.11	66.66	11.11	66.66	66.66	66.66	88.88	100	
	%(+/-)	22.22	0	0	0	0	22.22	22.22	66.66	11.11	22.22	0	11.11	0	
No Vacunado Desafiado Inmunosuprimido	% (+)	20	40	40	20	20	20	60	20	40	20	20	0	0	
	%(-)	60	60	60	60	80	60	40	80	60	80	80	100	100	
	%(+/-)	20	0	0	20	0	20	0	0	0	0	0	0	0	
<b>p=</b>		<b>0.6693</b>	<b>0.3429</b>	<b>0.2916</b>	<b>0.0057</b>	<b>0.0152</b>	<b>0.0181</b>	<b>0.0048</b>	<b>0.0084</b>	<b>0.0283</b>	<b>0.0012</b>	<b>0.0309</b>	<b>0.0001</b>	<b>0.0002</b>	

\*p &lt; 0.05

Se encontró una diferencia entre el número de individuos seropositivos entre los grupos experimentales a partir del cuarto muestreo y hasta el final de la prueba, donde los grupos Circumvent y Foster 1 mL obtuvieron la mayor cantidad de animales seropositivos. Los animales de estos grupos fueron sometidos a dos aplicaciones de cada vacuna, una a las 3 y otra a las 6 semanas de edad. Existe evidencia estadística ( $p < 0.05$ ) de diferencias entre los grupos de 2 dosis y el resto de los grupos (Cuadro 10). Dentro de los grupos vacunados el mayor porcentaje de animales negativos fue registrado por el grupo Circoflex con un 62.39% de animales negativos, siendo la vacuna con menor reactividad mostrada en el estudio. El grupo que registró el menor número de animales negativos fue el grupo de Circumvent con un 10.58%. Los grupos no vacunados tuvieron comportamientos similares. El grupo No Vacunado – No Desafiado presentó un 66.67% de animales negativos contra un 25.64% de animales positivos. Por otro lado el grupo No Vacunado – Desafiado mostró un 62.39% de animales negativos y 34.19% de animales positivos. Finalmente el grupo No Vacunado – Desafiado – Inmunosuprimido tuvo un 70.77% de animales negativos y un 24.62% de positivos (Figura 5).

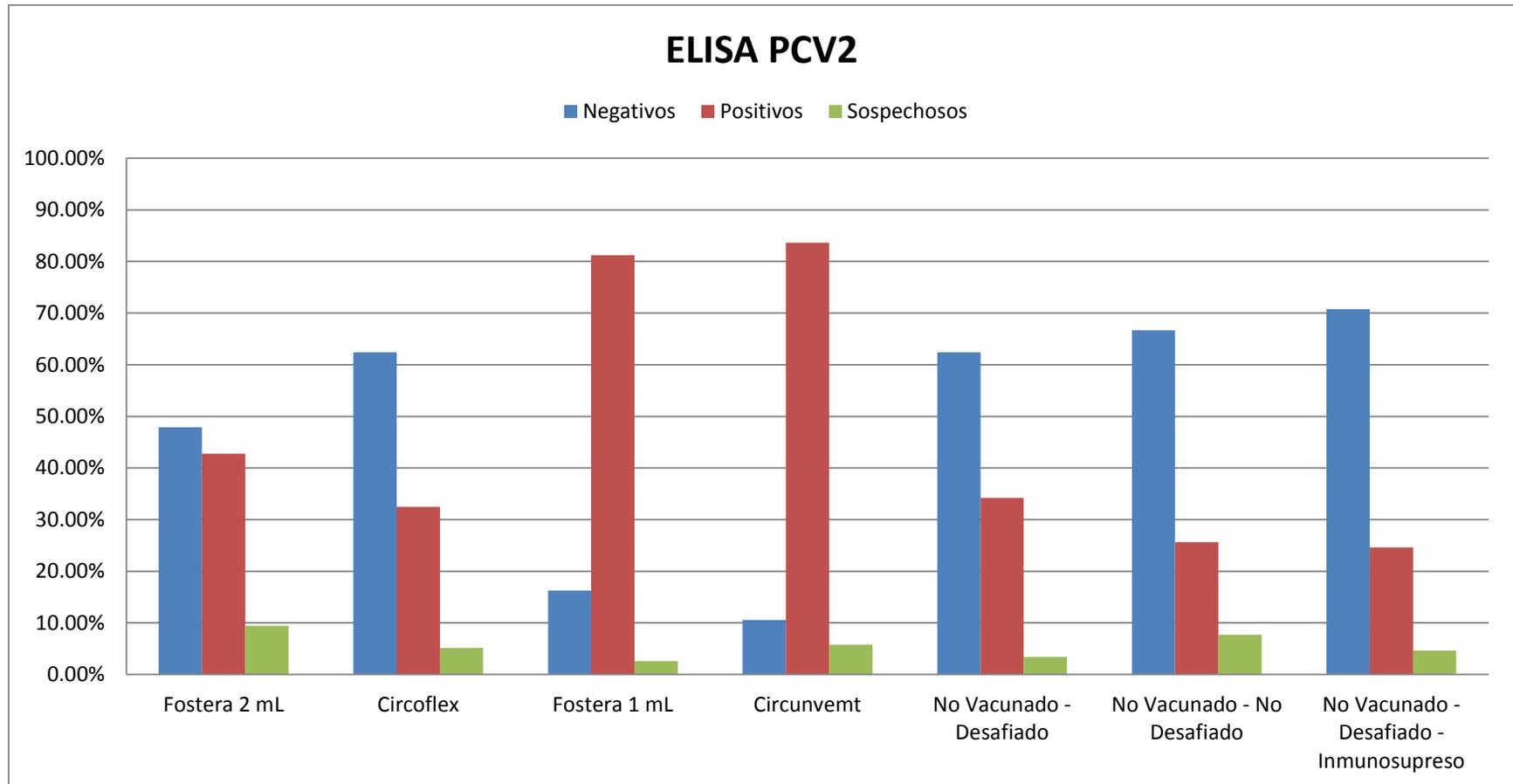


Figura 5. Porcentaje de animales positivos, negativos y sospechosos por tratamiento a la prueba de ELISA- PCV2

## ***Efecto de los tratamientos en las lesiones histopatológicas***

### **Atrofia Linfoide**

El grupo No Vacunado – Desafiado – Inmunosuprimido fue el que mostró el mayor porcentaje de atrofia linfoide para tonsila con un 50%; seguido del grupo Foster 1 mL con 25%. En tanto que los grupos Foster 2 mL, Circoflex, No Vacunado – No Desafiado y No Vacunado – Desafiado se empatan en este rubro con un 12.5% de afectados. El grupo vacunado con Circumvent fue el único que no reveló ningún porcentaje de atrofia linfoide en tonsila. Todos los grupos presentaron atrofia linfoide en bazo, sin embargo el grupo Circumvent exhibió menor porcentaje (75%). El resto de los grupos se mantuvieron con el 100% de atrofia linfoide en este órgano. La atrofia linfoide de linfonodos se presentó con un 87.5% en los grupos No Vacunado – No Desafiado y No Vacunado – Desafiado, seguido por el grupo No Vacunado – Desafiado – Inmunosuprimido con 83.3%; consecutivamente los grupos de Foster 1 mL, Foster 2 mL y Circoflex con un 75%. El grupo vacunado con Circumvent fue el que expresó menor porcentaje de atrofia linfoide con solo el 62.5% (Figura 6). En el presente estudio el grupo con menor grado de afectación fue el grupo de Circumvent para los tres tejidos (Cuadro 10).

### Cuadro 10. Atrofia de órganos linfoides

	Atrofia Linfoide					
	Linfonodos		Tonsila		Bazo	
Fostera 2 mL	75.0%	(6):(8)	12.5%	(1):(8)	100.00	(8):(8)
Circoflex	75.0%	(6):(8)	12.5%	(1):(8)	100.00	(8):(8)
Fostera 1 mL	75.0%	(6):(8)	25.0%	(2):(8)	100.00	(8):(8)
Circunvent	62.5%	(5):(8)	0.0%	(0):(8)	75.00	(6):(8)
No Vacunado - Desafiado	87.5%	(7):(8)	12.5%	(1):(8)	100.00	(8):(8)
No Vacunado - No Desafiado	87.5%	(7):(8)	12.5%	(1):(8)	100.00	(8):(8)
No Vacunado - Desafiado - Inmunosuprimido	83.3%	(5):(6)	50.0%	(3):(6)	100.00	(6):(6)

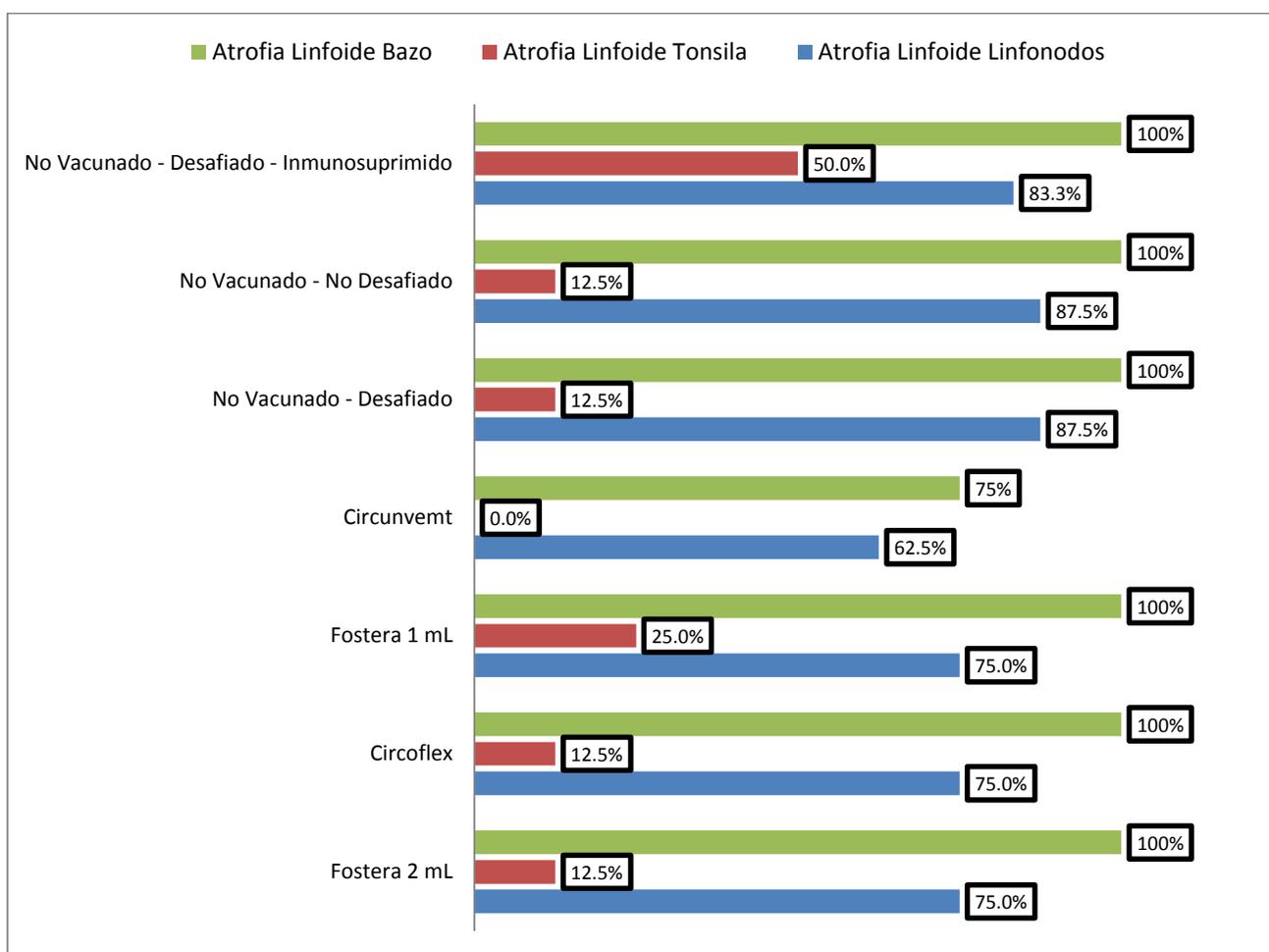


Figura 6. Atrofia linfoide por grupo experimental

## Linfonecrosis

En el caso de la linfonecrosis tonsilar el grupo No Vacunado – No Desafiado fue el que registro el mayor porcentaje de afectación, con un 87.5%. Por otro lado los grupos No Vacunado – Desafiado y Circoflex mostraron un 75%; seguidos del grupo No Vacunado – Desafiado – Inmunosuprimido con un 66.6% de afectación. Ambos grupos de Fosteria obtuvieron un 37.5% y el grupo de Circumvent registró el mínimo porcentaje con solo 25%. El mayor porcentaje de linfonecrosis en bazo la presentaron los grupos de Fosteria 2 mL y No Vacunado – No Desafiado con un 75%. De mayor a menor los grupos que le siguieron fueron el No Vacunado – Desafiado – Inmunosuprimido con 66.6%, Circoflex y Circumvent con 62.5% y Fosteria 1 mL con 50%. El grupo que registró menor porcentaje de linfonecrosis en bazo fue el No Vacunado – Desafiado con un 37.5%. Para el estudio de linfonecrosis ganglionar se registró al grupo No Vacunado – Desafiado – Inmunosuprimido con el mayor porcentaje de afectación con 83.3%; seguido por los grupos No Vacunado – No Desafiado, Circumvent y Circoflex con un 75% de daño. Los grupos tanto de Fosteria 1 mL y No Vacunado – Desafiado expresaron 37.5%. El grupo con menor porcentaje de afectación fue el de Fosteria 2 mL con solo un 25%. (Cuadro 11), (Figura 7).

### Cuadro 11. Linfocrosis en órganos linfoides

	Linfocrosis					
	Linfonodos		Tonsila		Bazo	
Fostera 2 mL	25.0%	(2):(8)	37.5%	(3):(8)	75.0%	(6):(8)
Circoflex	75.0%	(6):(8)	75.0%	(6):(8)	62.5%	(5):(8)
Fostera 1 mL	37.5%	(3):(8)	37.5%	(3):(8)	50.0%	(4):(8)
Circunvent	75.0%	(5):(8)	25.0%	(2):(8)	62.5%	(5):(8)
No Vacunado - Desafiado	37.5%	(3):(8)	75.0%	(6):(8)	37.5%	(3):(8)
No Vacunado - No Desafiado	75.0%	(6):(8)	87.5%	(7):(8)	75.0%	(6):(8)
No Vacunado - Desafiado - Inmunosuprimido	83.3%	(5):(6)	66.6%	(4):(6)	66.6%	(4):(6)

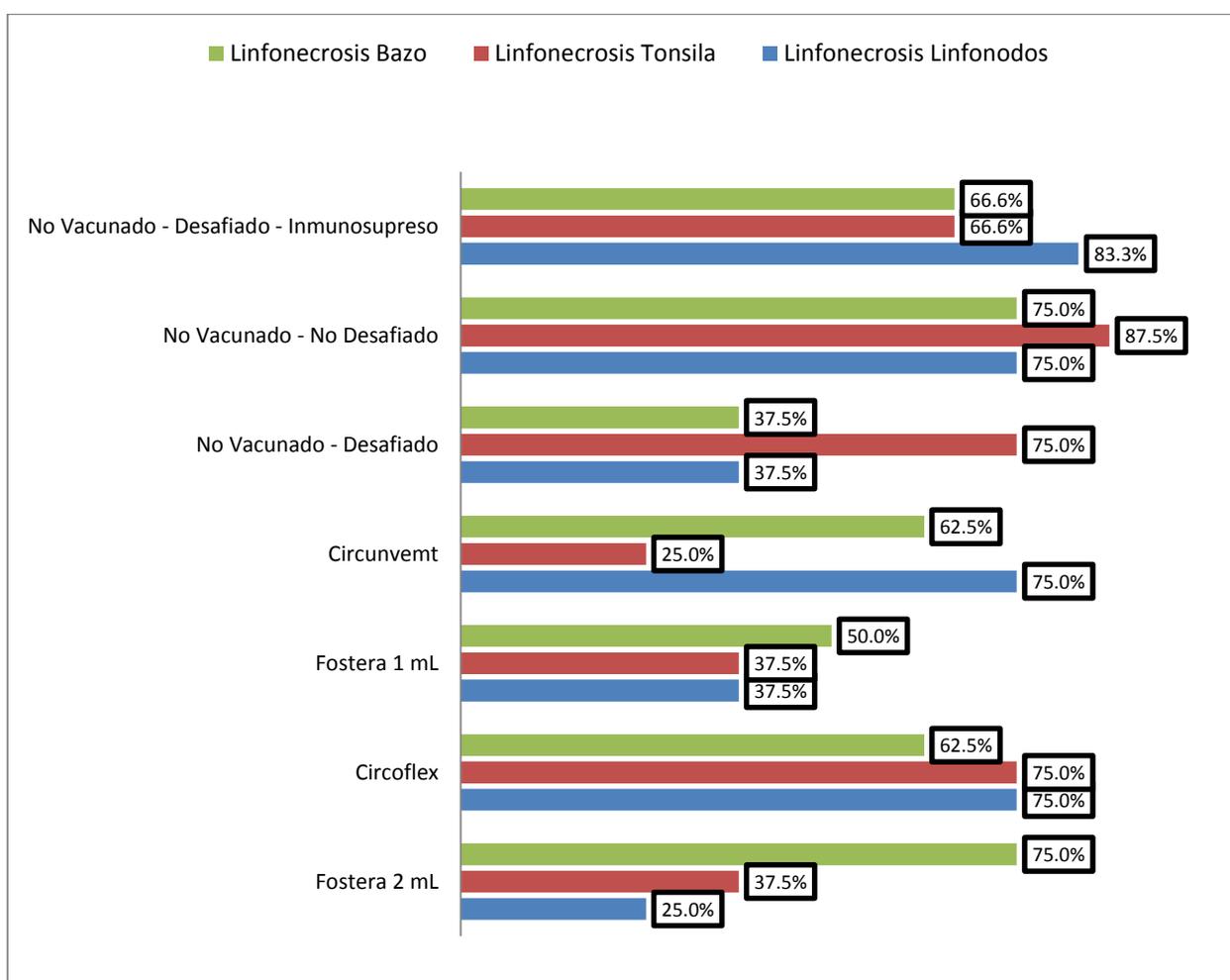


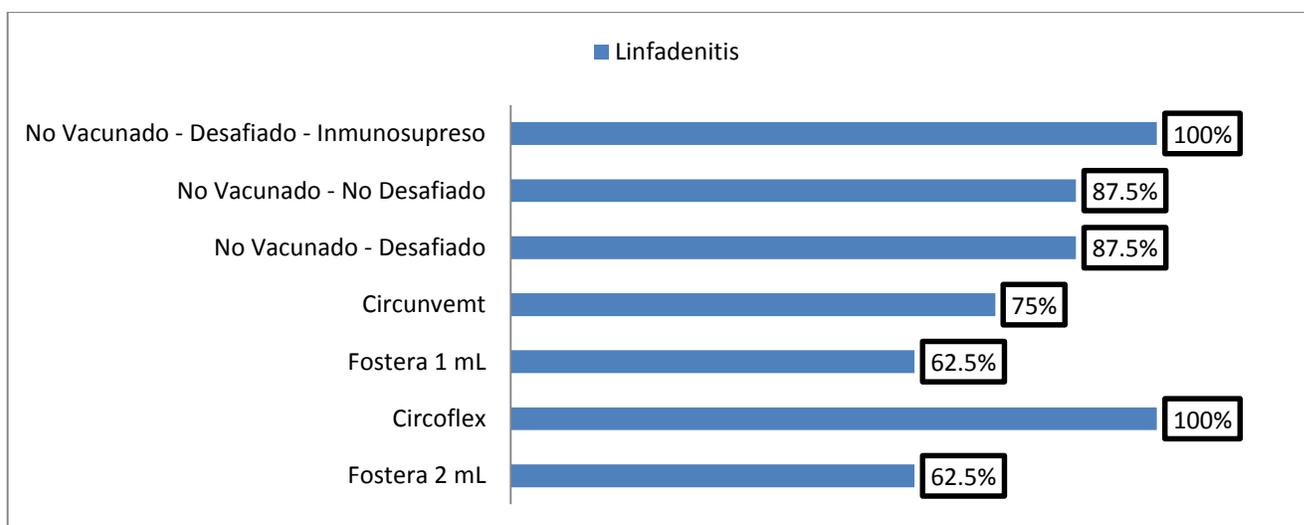
Figura 7. Porcentaje de linfocrosis de bazo, tonsila y linfonodos por grupo experimental

## Linfadenitis

En el estudio histopatológico de linfadenitis demuestra que los grupos de Circoflex y No Vacunado – Desafiado – Inmunosuprimido cuentan con el mayor porcentaje de afectación con un 100%. Los grupos No Vacunado – No Desafiado y No Vacunado – Desafiado son los segundos más afectados con un 87.5%; en seguida se colocó Circunvent con 75%. Los grupos que presentaron un menor grado de linfadenitis fueron ambos grupos Fosteria con tan solo un 62.5% (Cuadro 12), (Figura 8).

**Cuadro 12. Porcentaje de linfadenitis por grupo experimental**

	Linfadenitis	
Fostera 2 mL	62.5%	(5):(8)
Circoflex	100%	(8):(8)
Fostera 1 mL	62.5%	(5):(8)
Circunvent	75.00	(6):(8)
No Vacunado - Desafiado	87.5%	(7):(8)
No Vacunado - No Desafiado	87.5%	(7):(8)
No Vacunado - Desafiado - Inmunosuprimido	100%	(6):(6)



**Figura 8. Linfadenitis en los grupos experimentales**

### ***Efecto de los tratamientos en la viremia***

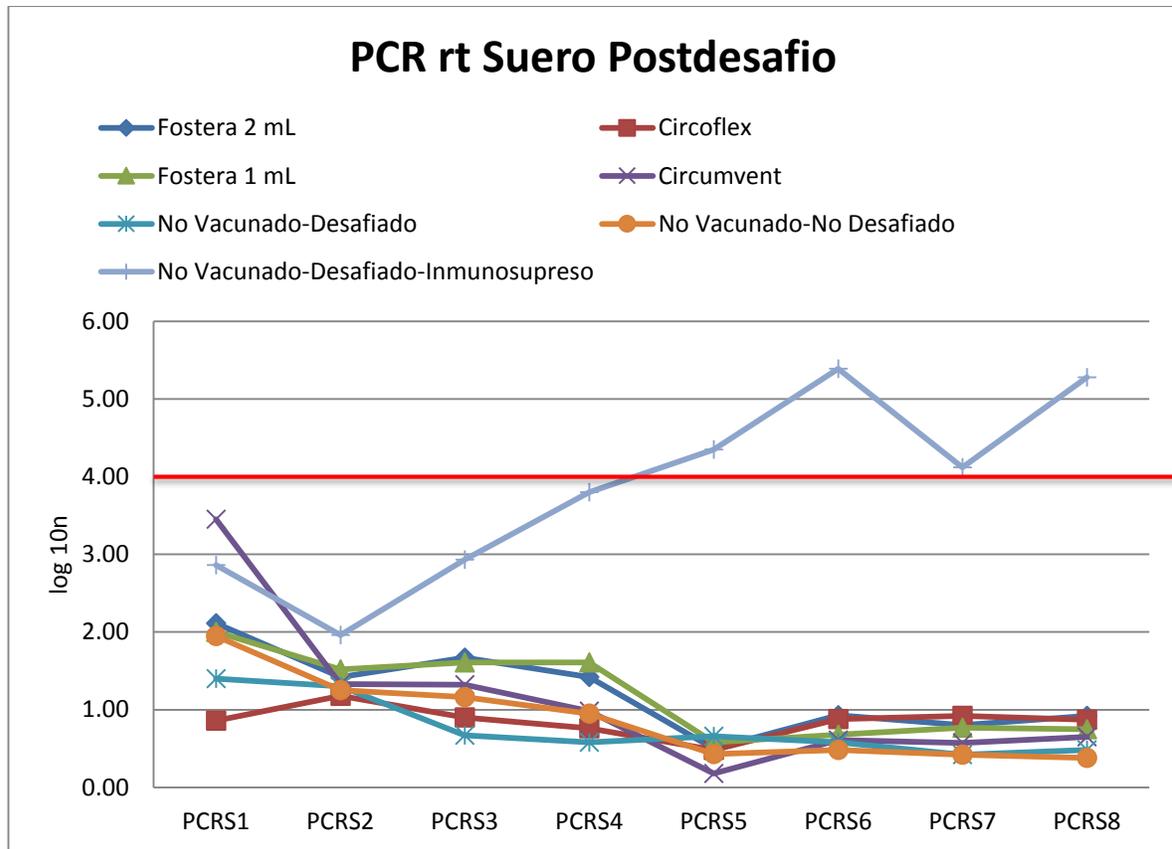
Todos los grupos se mantuvieron por debajo del punto de corte en el nivel de viremia; exceptuando al No Vacunado – Desafiado – Inmunosuprimido el cual lo rebaso a partir del quinto muestreo post desafío, alcanzando niveles de hasta  $1 \times 10^{5.28}$  partículas virales/replica (Cuadro 13).

**Cuadro 13. Títulos virales en suero mediante PCR rt  $1 \times 10^n$  partículas virales/replica**

<b>PCR Suero</b>	<b>PCRS1</b>	<b>PCRS2</b>	<b>PCRS3</b>	<b>PCRS4</b>	<b>PCRS5</b>	<b>PCRS6</b>	<b>PCRS7</b>	<b>PCRS8</b>
<b>Fostera 2 mL</b>	2.11	1.42	1.67	1.42	0.5	0.93	0.8	0.92
<b>Circoflex</b>	0.86	1.18	0.9	0.76	0.48	0.88	0.92	0.87
<b>Fostera 1 mL</b>	2	1.52	1.61	1.61	0.58	0.68	0.77	0.75
<b>Circumvent</b>	3.45	1.33	1.32	0.98	0.18	0.61	0.57	0.65
<b>No Vacunado-Desafiado</b>	1.4	1.3	0.67	0.58	0.66	0.58	0.42	0.48
<b>No Vacunado-No Desafiado</b>	1.95	1.25	1.16	0.95	0.43	0.48	0.42	0.38
<b>No Vacunado-Desafiado-Inmunosuprimido</b>	2.86	1.96	2.93	3.8	4.35	5.39	4.12	5.28

\*Título viral promedio entre los animales enrolados por grupo cuantificado mediante PCR tiempo real.

Todos los grupos vacunados mostraron una disminución en la cantidad de virus detectado en suero; así también los grupos no vacunados y no Inmunosuprimidos se mantuvieron por debajo del punto de corte.



**Figura 9.** Grafica de comportamiento de la viremia en suero de los grupos experimentales por PCR rt  $1 \times 10^n$  Rep/mL

La excreción nasal de PCV2 en los grupos experimentales muestra un comportamiento heterogéneo; sin embargo los títulos obtenidos del fluido nasal no rebasan  $1 \times 10^4$  Rep/mL. Inclusive el grupo que presentó la mayor viremia (No Vacunado – Desafiado – Inmunosuprimido), no rebasó dicho límite. El PCR se realizó una vez por cada muestra en todos los muestreos.

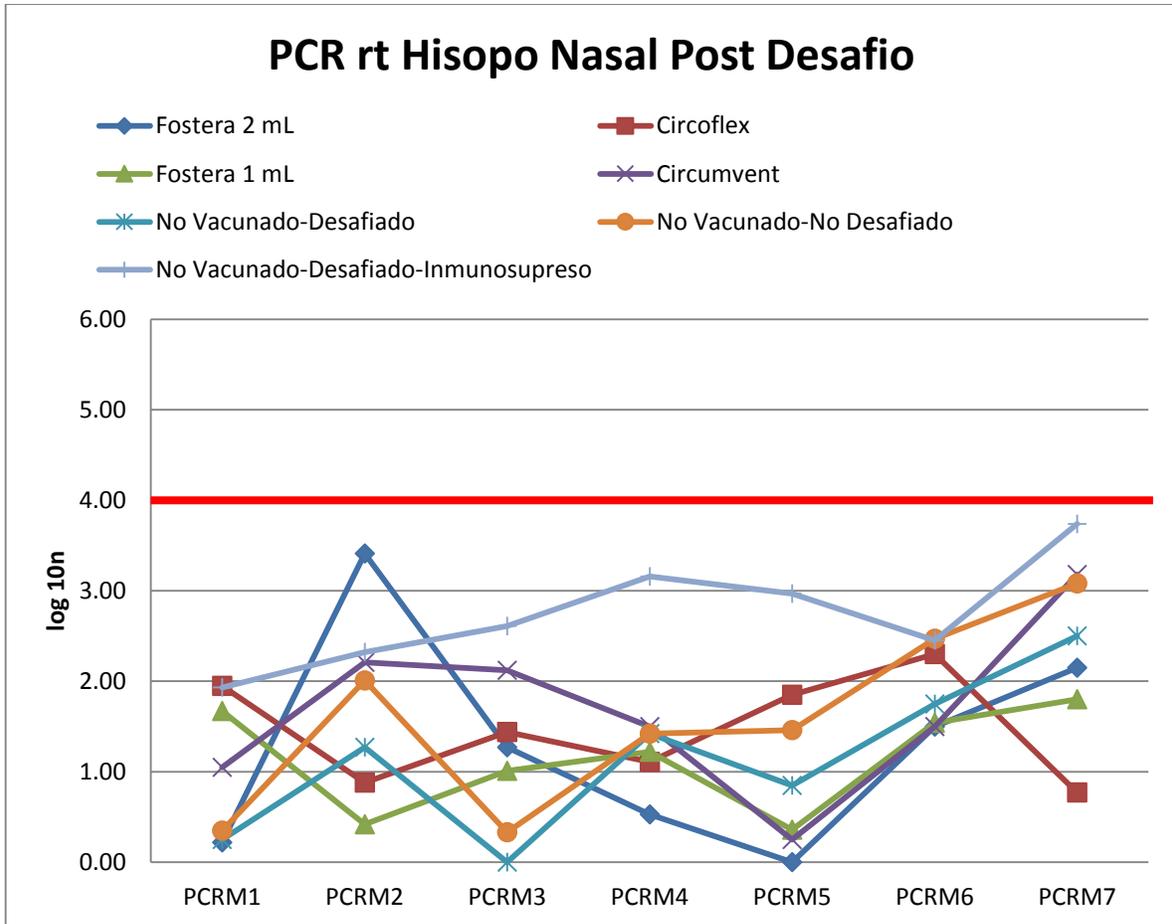


Figura 10. Comportamiento de la excreción del PCV2 mediante PCR rt en fluidos nasales, en los grupos experimentales

## DISCUSIÓN

Las enfermedades asociadas al PCV2 y múltiples enfermedades secundarias causan pérdidas devastadoras en las granjas con cerdos afectados; se encuentran entre los problemas de mayor importancia económica en la industria porcina. Afortunadamente los casos clínicos junto a su impacto económico han disminuido significativamente a partir de la introducción de las vacunas contra PCV2.

Al comparar los resultados entre productos de una y dos dosis, es necesario considerar que la eficacia de la vacuna puede ser influenciada por el intervalo entre la vacunación y el desafío. Los reportes en campo de fracasos vacunales son comunes, particularmente donde la exposición a PCV2 ocurre en fases avanzadas de la engorda de cerdos vacunados a temprana edad. Otros factores como vacunaciones fuera de protocolo, la no utilización de la dosis recomendada, la vacunación de animales enfermos e inmunosupresos, o la presencia de anticuerpos adquiridos pasivamente; constituyen puntos en contra de una vacunación efectiva. Las vacunas aprobadas para la administración de una sola dosis, son a menudo más populares que las de dos dosis debido a la reducción del costo de la mano de obra y material de dosificación, disminución en el estrés de los animales y la propagación de enfermedades asociadas a la vacunación. Sin embargo una de las desventajas de no aplicar una dosis de refuerzo es la falta de generación de un mayor número de células B de memoria, que ayudan a tener una respuesta inmune más eficiente en caso de que el animal se encuentre por segunda vez con el antígeno (T. Opriessnig, 2008) <sup>47</sup>.

(KwangSoo Lyoo, 2010) <sup>48</sup> reporta un estudio comparativo con tres vacunas comerciales: Circumvent®, Circoflex® y Suvaxyn®. Donde se demuestra que los grupos vacunados obtienen una diferencia positiva significativa en la variable de respuesta Ganancia Diaria de Peso de los grupos Circumvent® y Circoflex®, comparados con un grupo control y el grupo Suvaxyn®. En este estudio se observa que el grupo No Vacunado – No Desafiado presenta una ventaja significativa positiva en comparación con un grupo no vacunado (No Vacunado – Desafiado – Inmunosuprimido).

La producción de anticuerpos requiere un gasto metabólico, donde son tomadas fuentes de energía del animal para la síntesis de proteínas. Cuando el animal no se ve en la necesidad de producir dichos anticuerpos, ya sean inducidos por vacunación o por desafío en campo; es capaz de hacer eficiente su desempeño productivo sin verse disminuido en sus parámetros, (Zygmunt Pejsak, 2010) <sup>49</sup> reporta un estudio a nivel de campo donde precisa la mejoría en Conversión Alimenticia de animales vacunados con Circovac®, en comparación de animales no vacunados y con presentación clínica de PCV2.

En un estudio similar utilizando cerdos de engorda de las 2 a las 19 semanas de vida, bajo los siguientes esquemas de vacunación: Circumvent® (2 dosis), Circoflex® (1 dosis) y Suvaxyn® (1 y 2 dosis) demostró que no hubo diferencia significativa de la variable GDP entre los grupos; sin embargo los grupos control fueron superados en dicha variable. (H.G. Shen, 2010) <sup>50</sup>.

En el presente estudio solo se observó una diferencia estadística en el grupo No Vacunado – Desafiado – Inmunosuprimido, donde sus valores de GDP y peso de salida fueron menores significativamente; además de haber sido aquellos donde se existió signología clínica por PCV2, presentando palidez, retraso y deterioro que disminuyó significativamente su GDP. El tratamiento inmunosupresor semeja las condiciones en el campo, donde el animal se encuentra ante varios escenarios de estrés tales como el destete, reacomodo, hacinamiento, cambios medio ambientales, manejos e instalaciones son factores que afectan el comportamiento productivo y bienestar de los animales.

(Shen, 2010) reporta no haber encontrado diferencia significativa en la variable de respuesta humoral, entre protocolos de vacunación de 1 dosis y 2 dosis. Considerando que en el presente estudio los protocolos de vacunación de una dosis fueron los que presentaron una diferencia estadística de menor respuesta humoral que aquellos protocolos de dos dosis. El sistema inmune después de montar una respuesta ante un antígeno, es sensibilizado y genera linfocitos B de memoria; en el momento cuando se encuentra con el antígeno específico nuevamente se activa una respuesta humoral de mayores proporciones a la primaria. Este mecanismo es conocido como respuesta inmune secundaria y se presenta de manera normal en aquellos animales que ya sea por desafío natural o por vacunación, encuentran dentro de su sistema un antígeno con el que ya habían tenido contacto <sup>51</sup>.

Para aquellos sistemas de producción donde la presión de infección se encuentra elevada y existen múltiples desafíos por PCV2, los programas de vacunación que

se les ha visto con mayor éxito han sido aquellos que cuentan con dos aplicaciones. Aunque ayuda al control de manera favorable, tiene las desventajas que ya han sido mencionadas. Además que en este tipo de sistemas los animales se encuentran no solo desafiados por PCV2, coexistiendo con otros virus, bacterias y mycoplasmas. A menudo los manejos, vacunaciones o medicaciones enfocados contra ellos, complican el escenario para el acomodo de las dos aplicaciones en el momento adecuado <sup>49</sup>.

En los programas de una dosis es necesario realizar estudios serológicos por ELISA y de viremia por PCR rt previos en la población, para saber en qué etapa de la vida del animal se encuentra con el desafío por PCV2; esa información nos permite aplicar la vacuna por lo menos de 2-3 semanas antes del desafío. Asegurando que durante el periodo de latencia entre la vacuna y el desafío se produzcan anticuerpos que enfrenten a PCV2; este tipo de programas es utilizado normalmente en los sistemas estables donde la presión de infección es de moderada a baja <sup>49</sup>.

Durante el estudio los animales ubicados en los grupos no vacunados y el grupo Circoflex®, mostraron un porcentaje de animales negativos por encima del 60%; siendo ubicados 2 grupos con dos aplicaciones significativamente por arriba de los demás ( $p < 0.05$ ). Una de las explicaciones por la cual pudo ocurrir esta situación, es el tipo de vehículo con el que cuenta la vacuna, el cual es acuoso. A diferencia de las otras dos vacunas donde además de contener adyuvantes, también son vacunas con otro virus o capsides que fungen como vector.

La atrofia linfoide es una de las principales lesiones histológicas en la infecciones por PCV2, además de ser uno de los tres criterios de diagnóstico del agente. Ya que es indicativo de un proceso patológico en los cerdos afectados. Dentro de esta variable se observa un porcentaje de daño variable por tratamiento, evaluando 3 órganos linfoides: 2 primarios (linfonodos y bazo) y 1 secundario (tonsila). El grupo de Circumvent fue aquel que mostró una menor atrofia linfoide con 75% en bazo, 0.00% en tonsila y 62.5% en linfonodos. Concomitantemente este grupo también mostró un 83.65% de animales seropositivos por ELISA y el antepenúltimo lugar en el estudio de GDP. De nueva cuenta el grupo No Vacunado – Desafiado – Inmunosuprimido fue el que obtuvo el mayor grado de atrofia linfoide. Se encuentra demostrado que el uso prolongado de corticoesteroides produce linfopenia, monocitopenia, basopenia, eosinopenia y neutrofilia, debido a la redistribución celular en espacios extravasculares y la acción lítica en los linfocitos; la inmunosupresión generada demuestra reversibilidad en tratamientos agudos solamente. La producción de anticuerpos, principalmente IgG no es afectada por los corticoesteroides, solamente en el caso de dosis altas y durante tiempo prolongado, puede comprometerse la síntesis de anticuerpos por el aumento en el catabolismo proteico, pero no por una acción directa <sup>52</sup>.

En medida que la viremia por PCV2 es controlada, las lesiones histopatológicas se reducen. Sin embargo algunos tejidos infectados por el virus pueden estar libres de lesiones (Rosell et al., 1999) <sup>53</sup>. Como regla general, cuanto más grave sean

las lesiones en el tejido linfoide, mayor será el número de órganos infectados por PCV2.

La linfo necrosis muestra su nivel más bajo en el grupo de Foster 1 mL con porcentajes de 50% en bazo, 37.5% en tonsila y 37.5% en linfonodos. Además de tener un 81.20% de animales seropositivos en la prueba de ELISA, solo por abajo del grupo Circumvent. Los protocolos de dos dosis fueron más efectivos en reducir las lesiones histopatológicas con respecto a los grupos vacunados con una dosis y los no vacunados. Considerando que la producción de anticuerpos es mayor en los protocolos de vacunación basados en dos dosis, con ello fueron capaces de confrontar al virus en el momento del desafío y disminuir las lesiones histopatológicas en los animales.

El porcentaje de animales con linfadenitis, aunque no está exclusivamente relacionado con la presencia de PCV2; puede mostrar el grado de actividad del sistema linfático e inmune. Cualquier proceso bacteriano, viral o fúngico desencadena una respuesta inflamatoria en los linfonodos; aún así es un indicador del nivel de salud de los animales evaluados. Los grupos Foster 2 mL y 1 mL mostraron el menor porcentaje de todos los grupos evaluados con 62.5%; concomitantemente el grupo de Foster 2 mL ocupa el segundo lugar en la variable GDP, solo por debajo del grupo No Vacunado – No Desafiado.

(Olvera A., et al 2004) reporta una escala de clasificación de la viremia por PCV2 en cerdos, la cual muestra un punto de corte entre los animales clínicamente y subclínicamente enfermos mediante la cuantificación de partículas virales por

mililitro (Rep/mL). El punto de corte fue determinado mediante PCR rt, donde con un título de  $1 \times 10^4$  Rep/mL o mayor se considera como una presentación clínica por PCV2 y hacia abajo una subclínica <sup>54</sup>. PCV2 es considerado un virus cosmopolita y por lo tanto es posible encontrarlo en la mayoría de los cerdos del mundo; el que exista una presentación clínica dependerá de la patogenicidad del virus, factores ambientales, factores sanitarios y susceptibilidad de los animales.

Dentro del estudio de viremia post desafío, nos encontramos con un panorama similar en todos los grupos desafiados y no desafiados ya que todos mostraron una viremia por debajo del punto de corte; salvo el grupo No Vacunado – Desafiado – Inmunosuprimido que alcanzo títulos de  $1 \times 10^{5.28}$  Rep/mL, aunado a un evidente retraso en su crecimiento y reducida respuesta inmune humoral. La viremia y el efecto de la dexametasona aplicada de forma crónica, impacto el desempeño productivo y serológico del grupo.

## **CONCLUSIONES**

El presente estudio comparó la eficiencia de tres vacunas comerciales para el virus de PCV2, ante un escenario de desafío. Demostrando que los animales vacunados bajo diferentes esquemas son capaces de enfrentar una infección causada por PCV2. Es necesario continuar evaluaciones a nivel de campo con las diferentes vacunas, para obtener un resultado más concreto sobre los protocolos y calendarios de mayor éxito para cada una de ellas.

## BIBLIOGRAFÍA

1. **Tischer, I., Rasch, R. & Tochtermann, G. 1974.** Characterization of papovavirus-and picornavirus-like particles in permanent pig kidney cell lines. *Zentralbl Bakteriol [Orig A]* **226**, 153-67.
2. **Tischer, I., Gelderblom, H., Vettermann, W. & Koch, M. A. 1982.** A very small porcine virus with circular single-stranded ADN. *Nature* **295**, 64-6.
3. **Tischer, I., Miels, W., Wolff, D., Vagt, M. & Griem, W. 1986.** Studies on epidemiology and pathogenicity of porcine circovirus. *Arch Virol* **91**, 271-6.
4. **Dulac, G. C. & Afshar, A. 1989.** Porcine circovirus antigens in PK-15 cell line (ATCCCL-33) and evidence of antibodies to circovirus in Canadian pigs. *Can J VetRes* **53**, 431-3.
5. **Allan, G. M., Phenix, K. V., Todd, D. & McNulty, M. S. 1994.** Some biological and physico-chemical properties of porcine circovirus. *Zentralbl Veterinarmed B* **41**,17-26.
6. **Meehan, B.M., McNeilly, F., Todd, D., Kennedy, S., Jewhurst, V.A., Ellis, J.A., Hassard, L.E., Clark, E.G., Haines, D.M., Allan, G.M., 1998.** Characterization of novel circovirus ADNs associated with wasting syndromes in pigs. *J Gen Virol* **79**, 2171-2179.
7. **Hamel, A.; Lin, L.; Nayar, G. 1998.** Nucleotide sequence of porcine circoviruses associated with postweaning multisystemic wasting syndrome in pigs. *J. Virol.* **72**:5262-5267.
8. **Allan, G.M., Phenix, K.V., Todd, D., McNulty, M.S., 1994b.** Some biological and physicochemical properties of porcine circovirus. *Zentralbl Veterinarmed B* **41**, 17-26.
9. **Fenaux, M., Halbur, P.G., Gill, M., Toth, T.E., Meng, X.J., 2000.** Genetic characterization of type 2 porcine circovirus (PCV-2) from pigs with postweaning multisystemic wasting syndrome in different geographic regions of North America and development of a differential PCR-restriction fragment length polymorphism assay to detect and differentiate between infections with PCV-1 and PCV-2. *J Clin Microbiol* **38**, 2494-2503.

10. **Mankertz, A., Domingo, M., Folch, J.M., Le Cann, P., Jestin, A., Segales, J., Chmielewicz, B., Plana-Duran, J., Soike, D., 2000.** Characterisation of PCV-2 isolates from Spain, Germany and France. *Virus Res* 66, 65-77.
11. **Liu, J., Chen, I., Kwang, J., 2005.** Characterization of a previously unidentified viral protein in porcine circovirus type 2-infected cells and its role in virus-induced apoptosis. *J Virol* 79, 8262-8274.
12. **Liu, J., Chen, I., Du, Q., Chua, H., Kwang, J., 2006.** The ORF3 protein of porcine circovirus type 2 is involved in viral pathogenesis in vivo. *J Virol* 80, 5065-5073.
13. **Mankertz, A., Persson, F., Mankertz, J., Blaess, G., Buhk, H.J., 1997.** Mapping and characterization of the origin of ADN replication of porcine circovirus. *J Virol* 71,
14. **Cheung, A.K., 2004c.** Detection of template strand switching during initiation and termination of ADN replication of porcine circovirus. *J Virol* 78, 4268-4277.
15. **Steinfeldt, T., Finsterbusch, T., Mankertz, A., 2001.** Rep and Rep' protein of porcine circovirus type 1 bind to the origin of replication in vitro. *Virology* 291, 152-160.
16. **Cheung, A.K., 2007.** A stem-loop structure, sequence non-specific, at the origin of ADN replication of porcine circovirus is essential for termination but not for initiation of rolling-circle ADN replication. *Virology* 363, 229-235.
17. **Olvera, A., Cortey, M., Segalés, J., 2007.** Molecular evolution of porcine circovirus type 2 genomes: Phylogeny and clonality. *Virology* 357, 175-185.
18. **Gagnon, C.A., Tremblay, D., Tijssen, P., Venne, M.H., Houde, A., Elahi, S.M., 2007.** The emergence of porcine circovirus 2b genotype (PCV-2b) in swine in Canada. *Can Vet J* 48, 811-819.
19. **Segalés, J., Olvera, A., Grau-Roma, L., Charreyre, C., Nauwynck, H., Larsen, L., Dupont, K., McCullough, K., Ellis, J., Krakowka, S., Mankertz, A., Fredholm, M., Fossum, C., Timmusk, S., Stockhofe-Zurwieden, N., Beattie, V., Armstrong, D., Grasland, B., Bækbo, P.,**

- Allan, G., 2008.** PCV-2 genotype definition and nomenclature. *Vet Rec* 162, 867-868.
20. **Allan, G.M., McNeilly, F., Meehan, B.M., Kennedy, S., Mackie, D.P., Ellis, J.A., Clark, E.G., Espuna, E., Saubi, N., Riera, P., Bøtner, A., Charreyre, C.E., 1999.** Isolation and characterisation of circoviruses from pigs with wasting syndromes in Spain, Denmark and Northern Ireland. *Vet Microbiol* 66, 115-123.
21. **McNeilly, F., McNair, I., Mackie, D.P., Meehan, B.M., Kennedy, S., Moffett, D., Ellis, J., Krakowka, S., Allan, G.M., 2001.** Production, characterization and applications of monoclonal antibodies to porcine circovirus 2. *Arch Virol* 146, 909-922.
22. **Duffy, C., McNeilly, F., McNair, I., Tregaskis, P., Ellis, J., Krakowka, S., Adair, B.M., Allan, G.M., 2007.** The serological characterisation of PCV2 isolates using an established virus neutralization test for PCV2 antibodies. In: *Proceedings of the 5<sup>th</sup> International Symposium on Emerging and Re-emerging Pig Diseases*, Krakow, Poland, p. 52.
23. **Opriessnig, T., Madson, D.M., Prickett, J.R., Pogranichniy, R.M., Meng, X.J., Halbur, P.G., 2007.** Long-term effect of PCV2-infection and reinfection on PCV2-antibody and ADN profiles in pigs over time. In: *Proceedings of the 5th International Symposium on Emerging and Re-emerging Pig Diseases*, Krakow, Poland, p. 45.
24. **McNair, I., McNeilly, F., Duffy, C., Tregaskis, P., McKay, P., Fossum, C., Ellis, J., Krakowka, S., Allan, G.M., 2007.** Early distribution of PCV2 in a PMWS disease model. In: *Proceedings of the 5th International Symposium on Emerging and Reemerging Pig Diseases*, Krakow, Poland, p. 56.
25. **Pensaert, M.B., Sanchez, R.E., Ladekjær-Mikkelsen, A.S., Allan, G.M., Nauwynck, H.J., 2004.** Viremia and effect of fetal infection with porcine viruses with special reference to porcine circovirus 2 infection. *Vet Microbiol* 98, 175-183.

26. **Ellis, J., Krakowka, S., Lairmore, M., Haines, D., Bratanich, A., Clark, E., Allan, G., Konoby, C., Hassard, L., Meehan, B., Martin, K., Harding, J., Kennedy, S., McNeilly, F., 1999.** Reproduction of lesions of postweaning multisystemic wasting syndrome in gnotobiotic piglets. *J Vet Diagn Invest* 11, 3-14.
27. **Rosell, C., Segalés, J., Plana-Durán, J., Balasch, M., Rodríguez-Arriola, G.M., Kennedy, S., Allan, G.M., McNeilly, F., Latimer, K.S., Domingo, M., 1999.** Pathological, immunohistochemical, and in-situ hybridization studies of natural cases of postweaning multisystemic wasting syndrome (PMWS) in pigs. *J Comp Pathol* 120, 59-78.
28. **Sanchez, R.E., Nauwynck, H.J., McNeilly, F., Allan, G., Pensaert, M.B., 2001a.** Porcine circovirus 2 infection in swine fetuses inoculated at different ages of gestation. *Vet Microbiol* 83, 169-176.
29. **Bolin, S.R., Stoffregen, W.C., Nayar, G.P., Hamel, A.L., 2001.** Postweaning multisystemic wasting syndrome induced after experimental inoculation of cesarean-derived, colostrum-deprived piglets with type 2 porcine circovirus. *J Vet Diagn Invest* 13, 185-194.
30. **Meerts, P., Van Gucht, S., Cox, E., Vandebosch, A., Nauwynck, H.J., 2005c.** Correlation between type of adaptive immune response against porcine circovirus type 2 and level of virus replication. *Viral Immunol* 18, 333-341.
31. **Clark, E.G., 1996.** Post-weaning multisystemic wasting syndrome. In: *Proceedings of the 27<sup>th</sup> Annual Meeting of the Western Canadian Association of Swine Practitioners, Saskatoon*, pp. 19-20.
32. **Drew, T.W., Grierson, S.S., King, D.P., Hicks, D., Done, S., Neser, J.A., Evans, D.P., Grimbeek, P., Banks, M., 2004.** Genetic similarity between porcine circovirus type 2 isolated from the first reported case of PMWS in South Africa and North American isolates. *Vet Rec* 155, 149-11.
33. **Allan, G.M., McNeilly, E., Kennedy, S., Meehan, B., Moffett, D., Malone, F., Ellis, J., Krakowka, S., 2000b.** PCV-2-associated PDNS in Northern

- Ireland in 1990. Porcine dermatitis and nephropathy syndrome. *Vet Rec* 146, 711-712.
34. **Segalés, J., M. Calsamiglia, y M. Domingo. 2003a** How We diagnose Postweaning multisystemic Wasting Syndrome. *Proc Emerg Reemerg Swine Diseases*. 22: 149-151
  35. **Cano J.P., C. Rodríguez, E. Sogbe, Segalés, V. Utrera y C. Díaz. 2004.** Coinfección de Circovirus Porcino Tipo 2 con el Virus del Síndrome Respiratorio y Reproductivo Porcino en Venezuela. *Rev. Fac. Cs. Vets. UCV*. 45 (1): 19-29
  36. **Krakowka, S., F. Ellis, B. McNeilly, M. Meehan, S. Oglesbee, M. Aldinger y G. Allan. 2004.** Features of Cell Degeneration and Death in Hepatic Failure and Systemic Lymphoid Depletion Characteristic of PCV2 associated Postweaning Multisystemic Wasting Disease. *Vet Pathol* 47: 471- 481.
  37. **Allan, G.M., Ellis, J.A., 2000.** Porcine circoviruses: a review. *J Vet Diagn Invest* 12, 3-14.
  38. **Segalés, J., Alonso, F., Rosell, C., Pastor, J., Chianini, F., Campos, E., López-Fuertes, L., Quintana, J., Rodríguez-Arriola, G., Calsamiglia, M., Pujols, J., Domínguez, J., Domingo, M., 2001.** Changes in peripheral blood leukocyte populations in pigs with natural postweaning multisystemic wasting syndrome (PMWS). *Vet Immunol Immunopathol* 81, 37-44.
  39. **Segalés, J., Allan, G.M., Domingo, M., 2005a.** Porcine circovirus diseases. *Anim. Health Res. Rev.* 6 (2), 119–142.
  40. **Young, M.G., Cunningham, G.L., Sanford, S.E., 2011.** Circovirus vaccination in pigs with subclinical porcine circovirus type 2 infection complicated by ileitis. *J. Swine Health Prod.* 19, 6.
  41. **Allan, G.M., McNeilly, E., Kennedy, S., Meehan, B., Moffett, D., Malone, F., Ellis, J., Krakowka, S., 2000.** PCV-2-associated PDNS in Northern Ireland in 1990. Porcine dermatitis and nephropathy syndrome. *Vet. Rec.* 146 (24), 711–712.

42. **Madson, D.M., Patterson, A.R., Ramamoorthy, S., Pal, N., Meng, X.J., Opriessnig, T., 2009a.** Reproductive failure experimentally induced in sows via artificial insemination with semen spiked with porcine circovirus type 2. *Vet. Pathol.* 46 (4), 707–716.
43. **Grau-Roma, L., Segalés, J., 2007.** Detection of porcine reproductive and respiratory syndrome virus, porcine circovirus type 2, swine influenza virus and Aujeszky's disease virus in cases of porcine proliferative and necrotizing pneumonia (PNP) in Spain. *Vet. Microbiol.* 119 (2–4), 144–151.
44. **Cheng, C.C., Lee, Y.F., Lin, N.N., Wu, C.L., Tung, K.C., Chiu, Y.T., 2011.** Bronchiolitis obliterans organizing pneumonia in Swine associated with porcine circovirus type 2 infection. *J. Biomed. Biotechnol.* 2011, 245728.
45. **Kim, J., Chae, C., 2004.** Expression of monocyte chemoattractant protein-1 and macrophage inflammatory protein-1 in porcine circovirus 2-induced granulomatous inflammation. *J. Comp. Pathol.* 131 (2–3), 121–126.
46. **Sorden, S.D., 2000.** Update on porcine circovirus and postweaning multisystemic wasting syndrome (PMWS). *Swine Health Prod* 8, 133-136.
47. **T. Opriessnig, A.R. Patterson, D.M. Madson, N. Pal, P.G. Halbur., 2008.** Comparison of efficacy of commercial one dose and two dose PCV2 vaccines using a mixed PRRSV–PCV2–SIV clinical infection model 2–3-months post vaccination. Department of Veterinary Diagnostic and Production Animal Medicine, College of Veterinary Medicine, Iowa State University, Ames, IA 50011, United States. © 2008 Elsevier Ltd. All rights reserved.
48. **KwangSoo Lyoo,\* , HanSoo Joo, Brian Caldwell, HyeunBum Kim, Peter R. Davies, Jerry Torrison., 2010.** Comparative efficacy of three commercial PCV2 vaccines in conventionally reared pigs. Department of Veterinary Population Medicine, College of Veterinary Medicine, University of Minnesota, St. Paul, MN 55108, USA. 2010 Elsevier Ltd. All rights reserved.
49. **Zygmunt Pejsak, Katarzyna Podgo, Marian Truszczyn, Paweł Karbowski, Tomasz Stadejek.** Efficacy of different protocols of vaccination

against porcine circovirus type 2 (PCV2) in a farm affected by postweaning multisystemic wasting syndrome (PMWS). National Veterinary Research Institute, Swine Diseases Department, Partyzantow 57, 24-100 Pulawy, Poland

50. **H.G. Shen, N.M. Beach, Y.W. Huang, P.G. Halbura, X.J. Meng, T. Opriessnig.** 2010. Comparison of commercial and experimental porcine circovirus type 2 (PCV2) vaccines using a triple challenge with PCV2, porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV), and porcine parvovirus (PPV).
51. **Regueiro JR, López Larrea C.** Inmunología. Biología y Patología del Sistema Inmune (2ª Ed). Madrid, Editorial Médica Panamericana, 1997.
52. **Malgor, L.A.; Valsecia, M.** Farmacología Médica. 2º Edición. 2000. Sección IV, capítulo 26, 147-163. Soporte electrónico disponible en: <http://med.unne.edu.ar/farmaco.html>
53. **Rosell, C., Segalés, J., Plana-Durán, J., Balasch, M., Rodríguez-Arriola, G.M., Kennedy, S., Allan, G.M., McNeilly, F., Latimer, K.S., Domingo, M.,** 1999. Pathological, immunohistochemical, and in situ hybridization studies of natural cases of postweaning multisystemic wasting syndrome (PMWS) in pigs. *J. Comp. Pathol.* 120, 59–78.
54. **Olvera A, Sibiila M, Calsamiglia M, Segales J and Domingo M.** Comparison of porcine circovirus type 2 load in serum quantified by a real time PCR in postweaning multisystemic wasting syndrome and porcine dermatitis and nephropathy syndrome naturally affected pigs. *J Virol Methods.* 2004. 117:75-80.