

NEUMONÍA NECRÓTICA Y PROLIFERATIVA: PATOLOGÍA E IDENTIFICACIÓN DE VIRUS POR TÉCNICAS DE INMUNOHISTOQUÍMICA Y MICROSCOPIA ELECTRÓNICA

Piñeyro, P.E.^{1,2}, Quiroga, M.A.¹, Cappuccio, J.Á.¹, Machuca, M.A.¹, Ramos-Vara, J. A.³ y Perfumo, C.J.¹. 2006.

Vº Congreso de Producción Porcina del Mercosur.

¹Cátedra de Patología Especial, FCV, UNLP, La Plata.

²Becario SeCyT, UNLP. Animal Disease Diagnostic Laboratory and Department of Veterinary Pathobiology, School of Veterinary Medicine, Purdue University, West Lafayette, IN³.

www.produccion-animal.com.ar

Volver a: [Vº Congreso](#)

INTRODUCCIÓN

La neumonía necrótica proliferativa (NNP) afecta cerdos entre 4 y 16 semanas y se caracteriza por fiebre, disnea, respiración abdominal y pérdida de estado (4). A la necropsia se observa consolidación de los lóbulos craneales, medios y accesorio (consistencia carnosa), palidez cutánea, linfadenopatía generalizada y congestión hepática (4). Estudios de campo y experimentales definen los hallazgos histopatológicos en: exudación, infiltración de macrófagos, presencia de detritus celulares en la luz alveolar y proliferación de neumocitos tipo 2. A nivel de las vías aéreas, bronquiolitis necrótica o hiperplásica (1,2,3,4). La neumonía necrótica proliferativa (NNP) fue descrita en Canadá en 1990 asociada a una nueva variante de virus de influenza A (SIV) (4) y reproducida experimentalmente (1). Estudios prospectivos y retrospectivos en un número significativo de muestras de NNP comprobaron la interacción del virus del síndrome reproductivo respiratorio porcino (PRRSv) y el circovirus porcino tipo 2 (PCV-2) con variable significación patogénica para cada uno de ellos (2,3,6). La Argentina es libre de PRRSv (5) no así de PCV-2, sin embargo se han observado casos de campo equiparables a NNP.

Los objetivos de este trabajo fueron describir las lesiones microscópicas e identificar el o los agentes causales de 2 casos de neumonía con lesiones macroscópicas y microscópicas compatibles con NNP.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se estudiaron 2 muestras compatibles con NNP provenientes de una granja de ciclo completo. Una de ellas obtenida durante la inspección de pulmones en frigorífico, en los cuales el 3,7% (n=106) presentaron lesiones equiparables a NNP. La restante se obtuvo de un cerdo de 70 días, con signos de fiebre, disnea y retraso de crecimiento.

Las muestras de pulmón se fijaron en formol neutro al 10%, se incluyeron en parafina con histoplast (Biopack) y se colorearon con hematoxilina y eosina. Para la identificación inmunohistoquímica (IHQ) de SIV, se utilizaron muestras frescas incluidas en medio para cortes por congelación (Tissue-Tek, Miles Inc, USA). Sobre cortes de 4µm, se aplicó un anticuerpo primario monoclonal anti influenza A (Anti-Influenza A, Argene, Variheles-Francia) dilución 1:100. En cortes incluidos en parafina, se realizó la recuperación antigénica con proteinasa K (Dako Corp.) y se utilizó como suero primario, anticuerpo monoclonal (C65331M, Biotess), dilución 1:100. Para ambos procedimientos, se utilizó LSAB2 (DAKO, Corp) como sistema de detección.

Para la inmunomarcación de PCV-2 se utilizó un anticuerpo primario policlonal (VMRD, Inc. USA) en dilución 1:500. Como anticuerpo secundario, se utilizó IgG anti-cerdo biotinilada. Como sistema de detección se utilizó LSAB (DakoCytomation, USA) y una solución de diaminobencidina como cromógeno. Para ambos virus se utilizaron controles positivos y negativos.

Las muestras fijadas en formol fueron reprocesadas para microscopía electrónica. Se realizó la observación con un microscopio JEOL JEM- 1200 EX. Se realizaron estudios bacteriológicos complementarios.

RESULTADOS

Los hallazgos macroscópicos se correspondieron con un cuadro de bronconeumonía con localización en lóbulos anteriores y sin compromiso pleural. Se observaron lesiones tipo exudativas y proliferativas. Las primeras consistieron en alvéolos con exudado serofibrinoso y proliferación e infiltración de macrófagos alveolares. Las lesiones proliferativas se caracterizaron por hiperplasia de neumocitos tipo II y proliferación de tejido conjuntivo

en la pared alveolar. Se consignó bronquiolitis necrótica e hiperplasia del epitelio bronquiolar. Así mismo se observó presencia de células necróticas y polimorfonucleares en la luz de los bronquios y bronquiolos.

De los resultados de IHQ para SIV, sólo se observó inmunomarcación positiva en los cortes por congelación. La misma se localizó a nivel de las células descamadas en la luz de los bronquios y bronquiolos así como en los macrófagos intersticiales. La marcación del PCV-2 se observó bien marcada en los macrófagos alveolares e intersticiales y leve en las células de la lámina propia de las vías aéreas, bronquios y bronquiolos y en histiocitos intersticiales.

En el estudio con ME se observaron estructuras compatibles con partículas virales de la familia *Orthomyxoviridae*. De ambos casos se aisló e identificó *P. multocida*.

DISCUSIÓN

Los resultados de este estudio preliminar concuerdan en parte con los indicados en la bibliografía, en la que se identifican mas de un virus en NNP (2,3,6). Sin embargo, tanto en Canadá (2) como en Alemania (7) la infección PRRSv sólo o en combinación con PCV-2 fueron las más significativas. no así la asociación entre SIV y PCV-2. El hecho de que nuestro país es libre de PRRSv y aún no se ha aislado SIV complica la interpretación de etiopatogenia de NNP. La no marcación de virus de influenza por una de las técnicas de IHQ utilizadas puede atribuirse al corto tiempo pos infección durante el cual el virus puede ser detectado o al método de recuperación antigénica utilizado. La detección de PCV-2 y el aislamiento de *P. multocida* en ambas muestras confirman la amplia difusión del virus en nuestro medio, aún en cerdos en terminación.

BIBLIOGRAFÍA

- 1.Dea, S. et. al. J. Vet. Diagn. Invest. 4:380 –392,1992
- 2.Drolet, R. et. al. Vet. Pathol. 40: 143 –148, 2003
- 3.Larochelle, R. at al. Can. Vet. J. 35: 513 – 515, 1994
4. Morin, M. et. al. Can. Vet. J. 31: 837 – 839. 1990
- 5.Perfumo, C.J. et al. 2003 PRRS Compendium. Pág,209-211, 2003.
- 6.Pesch, S. et. al. IPVS Congress, Melbourne, Australia pág.581, 2000-
- 7.Rekik, M.R. et al. J. Clin. Microbiol. 515- 518. 1994.

Trabajo realizado con subsidio PICT 08-09253.

[Volver a: Vº Congreso](#)