

Frecuencia de seropositividad contra el circovirus porcino tipo 2 (PCV2) en el área metropolitana de Monterrey, Nuevo León y su área periférica

José Pablo Villarreal-Villarreal ^a

César Dávila-Martínez ^a

Heidi Giselle Rodríguez-Ramírez ^{a*}

^a Universidad Autónoma de Nuevo León. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Campus de Ciencias Agropecuarias, Colonia Ex-Hacienda el Canadá, General Escobedo, Nuevo León, México.

*Autor de correspondencia: rdzmzv@gmail.com

Resumen:

El circovirus porcino tipo 2 (PCV2) es un virus de tipo DNA que tiene afinidad por células del sistema inmune y que genera depleción de linfocitos por lo que favorece el desarrollo de enfermedades causadas por otros agentes oportunistas, así mismo está relacionado con la generación de diferentes síndromes. Por lo anterior, este virus produce importantes afecciones a la industria porcícola, sin embargo, fácilmente se pueden prevenir los síndromes asociados a PCV2 mediante la adecuada aplicación de medidas de bioseguridad y vacunación. Por otro lado, las unidades de producción a pequeña escala (UPPs) suelen carecer de este tipo de manejo preventivo, así como de vigilancia rutinaria por parte de un médico veterinario. Si bien, el PCV2 se considera un virus ampliamente distribuido, no existen reportes de su presencia en las UPPs en Nuevo León. Se determinó la presencia de anticuerpos contra PCV2 mediante el uso de un kit comercial y se realizó la biometría hemática de los animales. Se localizaron 48 UPPs en las que se encontró un 91.67% de positividad, así como un 89.7% de seropositividad en los animales. En la biometría se encontró que la HGB y el HCT se presentaron disminuidos en los individuos que resultaron positivos a anticuerpos comparados contra los negativos ($P=0.03$ y $P=0.01$, respectivamente), por el contrario, el valor de células blancas totales se encontró disminuido

en los individuos que resultaron negativos a la presencia de anticuerpo contra PCV2 ($P=0.01$).

Palabras clave: Traspatio, PCV2, Circovirus porcino tipo 2, ELISA, Seroprevalencia, Cerdos.

Recibido: 13/03/2023

Aceptado: 19/01/2024

El circovirus porcino tipo 2 (PCV2) es un virus DNA de cadena sencilla que sólo infecta a los cerdos, por lo que no tiene importancia zoonótica. El PCV2 es un patógeno que se ve implicado en el desarrollo de diferentes síndromes como el síndrome de desmedro post-destete, el síndrome de dermatitis y nefropatía, así como de fallas reproductivas⁽¹⁾. Se reconoce que la infección con este virus es un factor predisponente para los síndromes, sin embargo, requiere de la co-infección con otro agente patógeno para desencadenar el proceso de enfermedad. Entre los factores de riesgo que aumentan la posibilidad de introducir al agente en la población porcina y su diseminación se encuentran: bajo peso al nacer, bajo peso al destete, así como aquellos relacionados a las instalaciones y prácticas de manejo tales como el alojamiento de una gran cantidad de animales en poco espacio, contacto entre los cerdos y la higiene⁽²⁾.

El PCV2 tiene afinidad por las células del sistema inmune, especialmente los macrófagos y linfocitos⁽³⁾; de hecho, uno de los hallazgos clínicos esperados durante la infección por este virus es la reducción del conteo de los leucocitos totales, así como linfopenia^(1,4,5). Entre los métodos diagnósticos para este virus se encuentran el PCR y la inmunohistoquímica (IHQ)⁽⁶⁾, para esta última se emplea tejido linfático con la finalidad de detectar antígenos del virus, que indica la presencia de éste en las células blanco. Se ha confirmado que la depleción de linfocitos en tejido linfático está relacionada con la activación de la apoptosis mediante las vías de las caspasas 3 y 8 al interior de los linfocitos⁽³⁾, aunque no se descarta que existan otros mecanismos involucrados. La depleción de linfocitos induce un estado de inmunosupresión que además es agravado por la co-infección con otros agentes patógenos como el parvovirus porcino, el virus del PRRS, y otros más⁽⁷⁾, lo que permite la aparición de los síndromes mencionados.

En México las unidades de producción a pequeña escala (UPPs), se mantienen presentes en algunas áreas. Previamente se ha investigado las características entre estos sistemas presentes en el área metropolitana de Monterrey, Nuevo León y entre ellas se ha confirmado la falta de bioseguridad, medicación y de vigilancia rutinaria por parte de un médico veterinario. Las

condiciones mencionadas favorecen la entrada de agentes patógenos a las unidades de producción, así como su posterior perpetuación en el medio ambiente, sin embargo, el PCV2 tiene especial importancia, ya que al ser inmunosupresor permite la aparición de manifestaciones clínicas de infecciones secundarias en algunos casos⁽⁸⁻¹⁰⁾. Por lo anterior, el objetivo de este estudio fue determinar la presencia de anticuerpos contra PCV2 en cerdos de traspatio que no contaban con vacunación previa dirigida contra este agente patógeno, por lo que se realizó un estudio transversal en el que fueron incluidos cerdos en UPPs de 9 municipios correspondientes al área metropolitana de Monterrey, Nuevo León.

El sistema de producción a pequeña escala (también conocido como traspatio o artesanal) se definió como aquel en el que se llevarán a cabo actividades de crianza de cerdos en la vivienda de los dueños de los animales, o como una actividad económica complementaria, es decir, que no representará el principal ingreso familiar. La cantidad mínima de muestra se calculó con el software WinEpi bajo las siguientes consideraciones: se tomó en cuenta una prevalencia esperada del 92 % la cual se tomó de un reporte previo en México⁽¹¹⁾, un margen de error del 5 % y un nivel de confianza del 95 % para una población desconocida, arrojando una cantidad de 114 muestras mínimas. Una vez identificadas las UPPs se solicitó permiso a los propietarios para tomar muestras de los animales y al finalizar se aplicó un cuestionario. Las muestras se colectaron en el periodo de mayo de 2019 hasta marzo de 2020. Se incluyeron cerdos de diferentes edades; sin embargo, se evitó el muestreo en hembras gestantes para evitar el riesgo de aborto, así como de lechones lactantes para evitar la detección de anticuerpos maternos.

Para la toma de muestras, los cerdos se sujetaron físicamente. Durante la inmovilización se apuntó la condición corporal de cada individuo en una escala del 1 al 5. Se tomaron dos muestras sanguíneas de la vena yugular; una en un tubo colector con EDTA y la otra en un tubo colector con separador de suero. Las muestras con EDTA se procesaron en el laboratorio clínico del Hospital Veterinario de Pequeñas Especies (HVPE) de la Universidad Autónoma de Nuevo León bajo el procedimiento estándar en el equipo KONTROLab 5R+Vet.

El suero se separó del coágulo a 1,000 rpm durante 10 min a 4 °C para posteriormente ser fraccionado en alícuotas de 500 µl y almacenado a -80 °C hasta su posterior uso. Para la detección de anticuerpo contra PCV2 se empleó un kit comercial (Bio Check®), siguiendo las instrucciones del fabricante. Dicho kit posee una sensibilidad del 92.1 % y una especificidad del 95.6 %. La absorbancia de las muestras se leyó a 405 nm en el equipo Awareness technology Chromate® (Awareness technology Inc.).

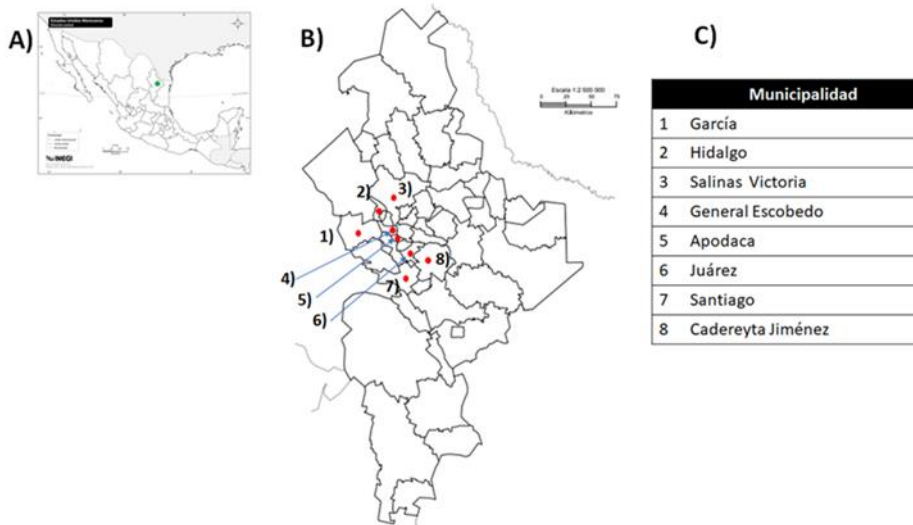
Los datos se capturaron en una hoja de cálculo para determinar el porcentaje de seropositividad. Se realizó una T de Student para determinar diferencia entre las medias de los parámetros hematológicos entre el grupo positivo y negativo a anticuerpos, así como de la frecuencia de la condición corporal de los animales. El análisis estadístico se realizó

empleando el software GraphPad Prism 6 (San Diego, CA). Un valor *P* de ≤ 0.05 se consideró como significativo.

Se localizaron 48 UPPs en las cuales se permitió el acceso para muestrear, las cuales se encontraban en los municipios de Apodaca, Cadereyta Jiménez, García, General Escobedo, Hidalgo, Juárez, Santiago y Salinas Victoria. Se encontró que, en 44 de los sitios muestreados, al menos un animal dio positivo a anticuerpos, por lo que el porcentaje de positividad fue de 91.67 %. El resto de las unidades de producción correspondía a cuatro sitios en los que ningún animal fue detectado como positivo a anticuerpos contra PCV2. En todos los municipios fue posible detectar unidades de producción positivas.

Se muestreó a un total de 204 animales, de los cuales se confirmó la presencia de anticuerpos contra PCV2 en 183, alcanzando un 89.7 % de seropositividad. En México, previamente se han realizado estudios donde se determinó un 92.29 % de positividad a anticuerpos contra PCV2 entre los animales y entre las unidades de producción un 98.14 % de positividad con al menos un animal positivo⁽¹¹⁾, por lo que, en congruencia con hallazgos de otros autores, la seropositividad contra este virus se encontró de forma ubicua en las UPPs en el área Metropolitana de Monterrey, Nuevo León y su zona periférica.

Figura 1: A) Mapa de México. B) Mapa de Nuevo León. Cada punto rojo representa una municipalidad muestreada. C) Identificación de los municipios muestreados



Por otra parte, diferentes grupos de investigación han explorado la presencia del PCV2 mediante el uso de PCR en tiempo real, un ejemplo es en Brasil donde han encontrado la presencia del genoma del virus en un 15.6 %⁽⁸⁾ de las muestras de pulmón estudiadas. Por otra parte, empleando PCR cuantitativa, en Colombia se ha detectado un 90 % de prevalencia empleando muestras de células blancas provenientes de sangre⁽⁹⁾. En España, otro grupo de

investigadores se han dado a la tarea de identificar la presencia del virus en unidades de producción tecnificadas en diferentes áreas empleando PCR cuantitativa en muestras ambientales, entre las que incluyeron hisopados de superficies de corrales, botas de trabajadores e incluso dentro de las oficinas de cinco unidades de producción⁽¹²⁾, logrando encontrar un 42.9 % de positividad, reiterando así la fácil diseminación de este virus y su amplia diseminación en el ambiente.

Los resultados de la seroprevalencia obtenidos se introdujeron en la plataforma WinEpi, así como las especificaciones de la sensibilidad y especificidad proporcionadas por el fabricante del kit a fin de estimar los valores predictivos positivo y negativo. La plataforma arrojó un valor predictivo positivo del 99.9 % y un valor predictivo negativo del 25.4 %, así como una prevalencia real del 97.3 %.

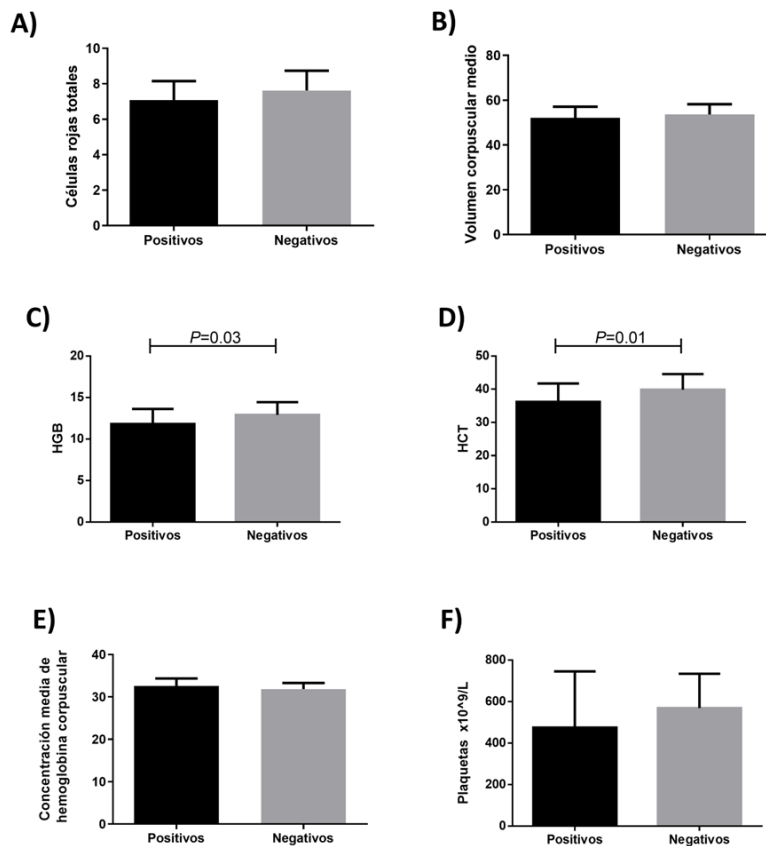
En este estudio no se muestrearon hembras gestantes debido al riesgo de inducir abortos o en su caso partos prematuros. Sin embargo, existen estudios en el contexto de otros agentes infecciosos, como en el caso de influenza A, en el que se ha demostrado que las hembras de mayor número de partos tienen una mayor experiencia inmune debido a su edad, así como una mayor concentración de anticuerpo específicos⁽¹³⁾. Por lo que es de suponer que, si se encontró positividad en animales de otras edades, del mismo modo exista seropositividad entre las hembras. Por otra parte, los cerdos son animales que nacen agamaglobulinémicos a menos que sean expuestos *in utero* a algún agente, por esto, es importante la ingesta de calostro para su supervivencia, ya que de este modo adquieren IgG e IgA de la madre⁽¹⁴⁾; en este estudio, los lechones que no habían sido destetados no se incluyeron, debido a que la presencia de anticuerpos maternos puede ser detectada a través del método de ELISA sin representar una seroconversión debida a la exposición al agente.

En cuanto a la condición corporal de los animales, se observó solo un animal con condición de 1 (0.41 %), 49 animales con condición de 2 (20.16 %), 86 con condición de 3 (35.39 %) y 107 animales con condición de 4 (44.03 %). No se observó ningún animal con una condición de 5. Se comparó la media de la condición corporal en el grupo positivo a anticuerpos contra el grupo negativo (n= 139 animales), pero no se encontró diferencia ($P>0.05$). Ya que para ninguno de los animales se reportó vacunación contra PCV2, se presume que la presencia de anticuerpos es debida a la seroconversión por experiencia inmune previa contra el virus de campo, sin embargo, estos anticuerpos podrían estar cumpliendo un rol protector contra el desarrollo de los síndromes asociados a PCV2. Se ha demostrado que la vacunación no siempre evita la viremia, pero sí disminuye la carga viral sistémica en los individuos vacunados⁽¹⁵⁾. Abonando a lo anterior, un grupo de investigadores demostró que la vacunación tiene un efecto positivo en la respuesta inmune celular y humoral incluso en animales que previamente presentaban viremia⁽¹⁶⁾, es decir, que se han infectado antes de ser vacunados.

Si bien, en este trabajo se encontró una alta frecuencia de positividad a anticuerpos, no se encontraron animales en aparente cuadro clínico. La mayor parte de los animales poseían una condición corporal de media a buena; así como tampoco fue posible diferenciar por la condición corporal a los negativos a anticuerpos de aquellos positivos. Otros investigadores han encontrado que la presencia del virus en granja no necesariamente es compatible con la presencia de los síndromes asociados al PCV2⁽¹²⁾, además, si bien este virus se reconoce como necesario para desencadenar los síndromes asociados, su sola presencia no es suficiente para producir la enfermedad⁽¹⁷⁾.

Por otra parte, se compararon las medias de los parámetros hematológicos en el grupo positivo a anticuerpos contra el negativo, y en cuanto a la línea roja se encontró una diferencia significativa para la hemoglobina (HGB) ($P=0.03$) y el hematocrito (HCT) ($P=0.01$), los cuales se encontraron disminuidos en el grupo positivo con respecto al grupo negativo a anticuerpos (Figura 2).

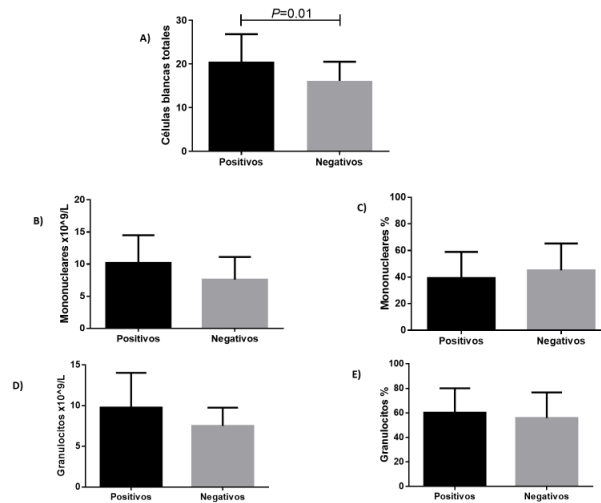
Figura 2: Comparación de parámetros hematológicos en la línea roja



La cantidad de individuos incluidos en cada análisis fueron: A= 124, B= 124, C= 141, D= 141, E= 141, F= 141.

Para la línea blanca (Figura 3), se encontró una disminución en las células blancas totales en el grupo negativo a anticuerpos contra PCV2 comparado con aquellos seropositivos ($P=0.01$). Aunque se encontraron diferencias en los parámetros de HGB y HCT disminuidos en los individuos positivos y células blancas totales en mayor cantidad en los positivos a anticuerpos comparados con los negativos, los tres parámetros se encontraron dentro de los rangos normales esperados en ambos grupos. Resulta interesante el hecho de encontrar una disminución en el conteo total de leucocitos en el grupo negativo a anticuerpos; sin embargo, el hallazgo orienta a pensar que estos cerdos pudieran encontrarse en un estado de infección e incluso viremia en el que aún están por desarrollar anticuerpos; así mismo, hay que tener en consideración que la mayoría de los individuos que permanecieron negativos a la presencia de anticuerpos, se encontraron en lugares donde se encontró al menos un animal positivo, por lo que es muy probable que tengan contacto con el virus en algún momento de su vida.

Figura 3: Comparación de parámetros hematológicos en la línea blanca



La cantidad de individuos incluidos en cada análisis fueron: A= 147, B=81, C=134, D= 81, E= 134.

En conclusión, existe la presencia de anticuerpos contra el PCV2 en una gran proporción de las UPPs y en los cerdos al interior de éstas, que se encuentran en el área Metropolitana de Monterrey, Nuevo León y su zona periférica; sin embargo, esto no implica la presencia de cuadros clínicos.

Agradecimientos

Agradecemos el apoyo financiero a la investigación proporcionado por la Universidad Autónoma de Nuevo León en la convocatoria PAICyT 2021 para la realización de este proyecto.

Conflictos de interés

Los autores declaran que no existe ningún conflicto de interés.

Literatura citada:

1. Zimmerman JJ. Disease of swine. 11th ed. USA: Wiley-Blackwell; 2019.
2. Grau-Roma L, Heegaard PMH, Hjulsager CK, Sibila M, Kristensen CS, Allepuz A, *et al.* Pig-major acute phase protein and haptoglobin serum concentrations correlate with PCV2 viremia and the clinical course of postweaning multisystemic wasting syndrome. *Vet Microbiol* 2009;138(1–2):53–61.
3. Shi R, Hou L, Liu J. Host immune response to infection with porcine circoviruses. *Anim Diseases* 2021;1(1):1–10.
4. Rajesh JB, Rajkhowa S, Dimri U, Prasad H, Mohan NH, Hmar L, *et al.* Haemato-biochemical alterations and oxidative stress associated with naturally occurring porcine circovirus2 infection in pigs. *Trop Anim Health Prod* 2020;52:2243–2250.
5. Gauger PC, Lager KM, Vincent AL, Opriessnig T, Cheung AK, Butler JE, *et al.* Leukogram abnormalities in gnotobiotic pigs infected with porcine circovirus type 2. *Vet Microbiol* 2011;154(1–2):185–190.
6. Karuppanan AK, Opriessnig T. Porcine circovirus type 2 (PCV2) vaccines in the context of current molecular epidemiology. *Viruses* 2017;9(5):1–15.
7. Ouyang T, Zhang X, Liu X, Ren L. Co-infection of swine with porcine circovirus type 2 and other swine viruses. *Viruses* 2019;11(2):16–20.
8. Balestrin E, Wolf JM, Wolf LM, Fonseca ASK, Ikuta N, Siqueira FM, *et al.* Molecular detection of respiratory coinfections in pig herds with enzootic pneumonia: a survey in Brazil. *J Vet Diagn Invest* 2022;34(2):310–313.
9. Uribe-García HF, Suarez-Mesa RA, Rondón-Barragán IS. Survey of porcine circovirus type 2 and parvovirus in swine breeding herds of Colombia. *Vet Med Sci* 2022;8(6):2451–2459.

10. Chen S, Li X, Zhang X, Niu G, Yang L, Ji W, *et al.* PCV2 and PRV coinfection induces endoplasmic reticulum stress via PERK-eIF2 α -ATF4-CHOP and IRE1-XBP1-EDEM Pathways. *Int J Mol Sci* 2022;23(9):4479.
11. Ramírez-Mendoza H, Martínez C, Mercado C, Castillo-Juárez H, Hernández J, Segalés J. Porcine circovirus type 2 antibody detection in backyard pigs from Mexico City. *Res Vet Sci* 2007;83(1):130–132.
12. López-Lorenzo G, Díaz-Cao JM, Prieto A, López-Novo C, López CM, Díaz P, *et al.* Environmental distribution of porcine Circovirus type 2 (PCV2) in swine herds with natural infection. *Sci Rep* 2019;9(1):1–8.
13. Ozawa M, Matsuu A, Yonezawa K, Igarashi M, Okuya K, Kawabata T, *et al.* Efficient isolation of swine influenza viruses by age-targeted specimen collection. *J Clin Microbiol* 2015;53(4):1331–1338.
14. Chattha KS, Roth JA, Saif LJ. Strategies for design and application of enteric viral vaccines. *Annu Rev Anim Biosci* 2015;3:375–395.
15. Afolabi KO, Iweriebor BC, Okoh AI, Obi LC. Global status of porcine circovirus type 2 and its associated diseases in Sub-Saharan Africa. *Adv Virol* 2017;2017:6807964.
16. Seo HW, Park C, Han K, Chae C. Effect of porcine circovirus type 2 (PCV2) vaccination on PCV2-viremic piglets after experimental PCV2 challenge. *Vet Res* 2014;45(1):1–9.
17. Zhai N, Liu K, Li H, Liu Z, Wang H, Korolchuk VI, *et al.* PCV2 replication promoted by oxidative stress is dependent on the regulation of autophagy on apoptosis. *Vet Res* 2019;50(1):1–11.