

ASLAMIENTO E IDENTIFICACION DEL PARVOVIRUS PORCINO EN EL URUGUAY

GUARINO, H.*; SIENRA, R.**; VARGAS, R.***

RESUMEN

Ante la sospecha clínica de parvovirus porcino (PVP) en el país, se procedió a la investigación del agente causal en materiales provenientes de matadero.

El aislamiento fue realizado a partir de fetos suinos momificados. La identidad del virus fue confirmada mediante las técnicas de hemaglutinación (HA) e inhibición de la hemaglutinación (HI), así como por sus propiedades físico-químicas: resistencia al éter, cloroformo y desoxicolato de sodio, filtrabilidad y termoestabilidad.

Se enfatiza la importancia de considerar al PVP como uno de los principales agentes causales de infertilidad en la cerda.

Palabras Clave: PARVOVIRUS PORCINO, INFERTILIDAD EN LA HEMBRA.

VETERINARIA 21 (90) 8-11 ene.-abr. 1985

SUMMARY

The presence of porcine parvovirus (PPV) infection was clinically suspected in the country, and investigations of the causal agent were carried on in abattoir samples.

Porcine parvovirus was isolated from tissues of mummified fetuses. Haemagglutination (HA) and haemagglutination inhibition (HI) techniques, as well as physicochemical properties: resistance to ether, chloroform and deoxycolate, filtrability and effect of heating, confirm the viral isolate.

The importance of considering the PPV as one of the principal agent of infertility in sows is emphasized.

Key Words: PORCINE PARVOVIRUS, FEMALE, INFERTILITY.

VETERINARIA 21 (90) 8-11 jan.-apr. 1985

INTRODUCCION

Las pérdidas económicas debidas a desórdenes reproductivos poseen una gran importancia en los establecimientos dedicados a la cría intensiva de suinos. En estos casos la infertilidad suele ser atribuida a desbalances nutricionales, errores de manejo, intoxicaciones o procesos infecciosos de variada índole (4) (13). Sin embargo, en la mayoría de los casos no resulta posible establecer con exactitud la etiología del problema (2).

La infertilidad de origen infeccioso suele manifestarse por retornos al servicio, abortos, momificación fetal, nacimiento de camadas pequeñas y retardo del crecimiento en los lechones (5).

Numerosos agentes virales se han relacionado con bajas performances reproductivas, aunque el rol de cada uno de ellos no ha sido aún claramente definido. En tal sentido, Dunne y col. (1965), establecieron el término SMEDI —acrónimo que se refiere a natimorto, momificación, muerte embrionaria e infertilidad— para designar a un grupo de virus de elevada patogenidad hacia los fetos suinos.

En la actualidad el empleo del término SMEDI se reserva para aquellos trastornos reproductivos originados exclusivamente por enterovirus (6) (27), aunque algunos autores mantienen todavía el sentido amplio empleado originalmente (4) (8).

Además de los mencionados enterovirus, otros virus se han relacionado con la infertilidad de la cerda, incluyendo al de la Peste Porcina Clásica y Africana, Fiebre Aftosa, Parvovirus Porcino (PVP), Seudorrabia, Influenza Porcina, Encefalitis Japonesa tipo B, reovirus y adenovirus (2) (4) (7) (8) (11) (15).

Los enterovirus y el PVP representan, según los relevamientos efectuados en numerosos países, los agentes virales más importantes en relación a la infertilidad de la cerda (6) (7) (13) (15). El PVP se asoció con problemas de fertilidad recién a partir de la década del '70, considerándose en la actualidad como el principal responsable de la mortalidad embrionaria y fetal de la especie (20). El agente posee amplia difusión mundial (7) (11) (16) (17) (19) (23) (24) (25), estando su poder patógeno limitado exclusivamente a embriones o fetos suinos (10) (13) (23) (27).

En nuestro país ciertos disturbios reproductivos en cerdas, particularmente aquellos relacionados con el hallazgo de fetos momificados al parto, han motivado interés creciente por la enfermedad.

El objetivo del presente trabajo es comunicar el primer aislamiento y posterior tipificación del PVP en el Uruguay, realizado a partir de fetos momificados provenientes de matadero.

MATERIAL Y METODOS

Colección de las muestras

En matadero, se inspeccionaron órganos genitales internos de cerdas preñadas, remitiendo a la Facultad de Veterinaria aquellos que presentaban fetos momificados. Un sólo útero, que contenía en total diez fetos momificados, fue destinado al aislamiento del virus. El tamaño de las momias osciló entre 3,5 y 9 cm de largo, correspondiendo a una edad estimada de 35 a 60 días de gestación.

Para el aislamiento se utilizó la técnica de Joo & Johnson (1976), aplicable a fetos de menos de 16 cm de largo (12). Con tal finalidad se confeccionaron tres grupos de fetos, según su tamaño aproximado: dos con tres y uno con cuatro; formándose un cuarto grupo con los anexos fetales correspondientes. Todos los análisis se efectuaron en

* D. V. Centro de Investigaciones Veterinarias "Miguel C. Rubino".

** D. V., M.M.V. Facultad de Veterinaria.

*** D. V. Facultad de Veterinaria.

el Departamento de Virología del Centro Investigaciones Veterinarias "Miguel C. Rubino" (CIVET).

Cada muestra fue triturada mecánicamente en solución salina tamponada (PBS), logrando una suspensión del 10 %. Luego de congelar a -70°C y descongelar, tres veces, se clarificó mediante centrifugación a 1.000g durante 10 minutos, utilizando el sobrenadante para las diferentes pruebas.

Hemaglutinación (HA)

Se empleó la prueba en microplaca, con fondo en V, utilizando glóbulos rojos de cobayo al 0,6 %, suspendidos en solución tampón Veronal Salino (VBS) pH 7,3. A diluciones seriadas en base dos, de 0,025 ml del sobrenadante en VBS, se le adicionaron 0,05 ml de la suspensión de glóbulos rojos. Las placas se mantuvieron a temperatura ambiente durante 1 h., procediéndose luego a su lectura. Los resultados se expresaron como el recíproco de la mayor dilución positiva.

Inhibición de la Hemaglutinación (HI)

Se aplicó la técnica de Clark & Casals (1958) en microplaca, utilizando como antígenos a los sobrenadantes con actividad de HA enfrentados a un suero hiperinmune de referencia. El antígeno de PVP, así como el suero positivo control, fue proporcionado por el Dr. T. St. George*.

Filtrabilidad del Antígeno

Los sobrenadantes se filtraron mediante Millipore** de 450 y 200 nm de diámetro. Los resultados se evaluaron mediante HA.

Resistencia del Virus

La estabilidad de la actividad hemaglutinante fue evaluada en relación a la resistencia del virus frente al éter, cloroformo, desoxicolato de sodio y calor.

—Éter y Cloroformo

Los sobrenadantes se mezclaron con éter al 20 % por volumen se mantuvieron a 4°C durante 18 horas y se centrifugaron a 2.500 rpm durante 10 minutos, procediéndose luego a la realización de la prueba de HA.

En el caso del cloroformo, se mezclaron 0,1 ml del producto con 2 ml del sobrenadante, colocándose a 4°C durante 10 minutos, efectuando la prueba de HA luego de centrifugar, como en el caso del éter.

—Desoxicolato de Sodio

Volúmenes iguales de una solución de desoxicolato de sodio al 0,2 % en PBS y sobrenadante, se incubaron a 37°C durante 1 hora, procediéndose luego a la valoración mediante HA.

—Calor

El efecto de la temperatura sobre el antígeno se evaluó mediante HA, luego de incubar los sobrenadantes a 56°C durante 30, 60, 120 y 180 minutos.

RESULTADOS

Aislamiento

Los sobrenadantes procedentes de la trituración

* CSIRO, Australia.

** Millipore Corporation, Massachusetts, USA.

de los fetos momificados evidenció propiedades hemaglutinantes al ser enfrentados ante glóbulos rojos de cobayo. Los títulos de HA fueron prácticamente similares en los tres grupos de fetos (Tabla 1). El sobrenadante correspondiente a los anexos fetales, por su parte, careció de efecto hemaglutinante.

Identificación

La propiedad hemaglutinante de los sobrenadantes correspondientes a los fetos momificados, fue específicamente inhibida al enfrentar el antígeno con el suero hiperinmune de referencia (Tabla 1).

TABLA I. Títulos de HA e HI en los grupos de fetos momificados (1-3) y anexos (4).

Muestra	Título	
	HA	HI
1	1:256	1:512
2	1:128	1:256
3	1:128	1:256
4	negativo	negativo

La filtración de los materiales no produjo pérdida significativa, mayor de una dilución, en las propiedades hemaglutinantes, tal como se observa en la Tabla II. La temperatura, éter, cloroformo y desoxicolato de sodio, tampoco alteraron significativamente al antígeno, evidenciando su resistencia frente a éstas condiciones (Tablas III y IV).

TABLA II. Filtrabilidad del virus aislado, evaluada mediante HA.

Filtro	Muestra		
	1	2	3
Prefiltrado	1:256	1:128	1:128
450 nm	1:256	1:128	1:128
220 nm	1:128	1:64	1:64

TABLA III. Efecto de la incubación a 56°C , en diferentes tiempos, evaluado mediante HA.

Tiempo	Muestra		
	1	2	3
Sin tratar	1:256	1:128	1:128
30 minutos	1:256	1:64	1:64
60 minutos	1:256	1:128	1:128
120 minutos	1:256	1:128	1:128
180 minutos	1:256	1:128	1:128

TABLA IV. Resistencia al éter, cloroformo y desoxicolato de sodio, evaluada mediante HA.

	Muestra		
	1	2	3
Sin tratar	1:256	1:128	1:128
Éter (20 %)	1:128	1:64	1:128
Cloroformo (4,8 %)	1:256	1:128	1:128
Desoxicolato de Na (0,1 %)	1:128	1:64	1:128

DISCUSION

En los aislamientos realizados no se evidenciaron diferencias en las propiedades serológicas y físico-químicas, por lo cual se considera que se trató de un único agente viral el presente en las distintas muestras procesadas. Las características del mismo, de acuerdo a los resultados obtenidos, permiten establecer que se trató del parvovirus porcino (PVP). En tal sentido, su actividad hemaglutinante frente a eritrocitos de diversas especies, incluyendo cobayo, constituye una propiedad de la partícula viral intacta (13) (16). La inhibición de dicha actividad, mediante el empleo de suero hiperinmune específico contra PVP confirma su identidad (9) (13) (14) (15).

La resistencia del virus frente a diversos compuestos (éter, cloroformo y desoxicolato de sodio), filtrabilidad y termostabilidad, concuerda con lo observado por diferentes investigadores (2) (13) (16) (21) (22) (27). La cepa de PVP aislada en el presente estudio, de acuerdo al comportamiento constatado, estaría en estrecha relación con las cepas aisladas en otros países (1) (16) (22) (24) (27). Cabe destacar, por otra parte, que no existirían relaciones antigénicas entre el PVP y otros virus que afectan al suino (20). En consecuencia la demostración de antígeno de PVP en los tejidos fetales puede ser considerada una prueba definitiva de infección, sea pasada o actual (17).

La relación causal entre el aislamiento del PVP y la momificación fetal debe ser discutida. Una amplia gama de enfermedades y de agentes infecciosos, incluyendo Brucelosis, Leptospirosis, Peste Porcina Clásica, Seudorrabia, reovirus, adenovirus, parvovirus y enterovirus, son capaces de producir esta patología reproductiva en el suino (3) (4) (15). Numerosas investigaciones han demostrado que el PVP es el principal responsable de momificación fetal en la especie considerada (9) (10) (26). Su poder patógeno depende del momento de la gestación en que se produce la infección. Si ésta ocurre de los 35 días de gestación, hay muerte embrionaria, con posterior reabsorción, que si es total lleva a un nuevo celo, y si es parcial determina el nacimiento de camadas poco numerosas (10) (20) (26). Una infección posterior, pero ocurrida antes de establecerse la inmunocompetencia (alrededor de los 70 días), lleva a la muerte y posterior momificación de parte o de toda la camada (12) (14) (18) (23) (27). Luego de éste período, los fetos pueden ocasionalmente morir, generando momificaciones parciales o natimortos, o sobrevivir a la infección sin posteriores consecuencias (7) (13) (14) (26) (27). Por lo expuesto es posible estimar que la muerte y posterior momificación fetal, en el caso estudiado, se debió a una masiva replicación de PVP entre los 35 y 70 días de preñez.

La utilidad de los fetos momificados como fuente de antígeno para el diagnóstico de PVP, destacada por otros autores (12) (13) (14) (17) (26), fue verificada en el presente estudio.

CONCLUSIONES

El aislamiento e identificación del parvovirus porcino a partir de fetos momificados confirma la presencia del agente en el país. La real incidencia a nivel de la población suina deberá, sin embargo, ser objeto de nuevas investigaciones. En tal sentido, frente a problemas de infertilidad en cerdas, especialmente aquellos relacionados con la aparición de fetos momificados, se deberá tener presente al

PVP como uno de los agentes causales de mayor importancia.

AGRADECIMIENTOS

Al Dr. L. Soares Netto y a los Bachs. F. Dutra y R. Canavesse por su invaluable colaboración en la obtención de los materiales.

A la Sra. G. González de Soto por su importante ayuda en los trabajos de laboratorio.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. BACHMANN, P.A. Virological and serological investigations in experimental parvovirus infection in pigs. *Inter. Pig Vet. Soc. Congr.*, 4º Ames, Iowa. DD3, 1976.
2. CARTWRIGHT, S.F. & HUCK, R.A. Viruses isolated in association with herd infertility, abortions and stillbirths in pigs. *Vet. Rev.* 81(8): 196-197, 1967.
3. CLARKE, D.H. & CASALS, J. Techniques for hemagglutination and hemagglutination-inhibition with arthropod-borne viruses. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 7:561-573, 1958.
4. CUTLER, R. Infectious infertility in swine. *Refresher Course for Veterinarians*, Sydney, Australia. *Proceed.* 56:40-42, 1981.
5. CUTLER, R. Porcine Parvovirus. *Refresher Course for Veterinarians*, Sydney, Australia. *Proceed.* 56:45-46, 1981.
6. DERBYSHIRE, J.B. Porcine enterovirus infections. In LEMAN, A.D. y col Edts. *Diseases of Swine*. 5ª ed., Ames, Iowa State University, p. 265-270. 1981.
7. DONALDSON WOOD, C.R.; JOO, H.S.; JOHNSON, R.H. The effect on reproductive performance of porcine parvovirus infection in a susceptible pig herd. *Vet. Rec.* 100(12):237-239, 1977.
8. DUNCAN, L.C.; RAMOS, S.; PADILLA, M. El síndrome SMEDI asociado a la infertilidad en la cerda. *Ciencias Vet.* 3(1):43-49, 1981.
9. FORMAN, A.J.; LENGHAUS, C.; HOGG, G.G. HALE, C.J. Association of a parvovirus with an outbreak of foetal death and mummification in pig. *Austr. Vet. J.* 52(1):328-329, 1977.
10. GILLIK, J.C. An outbreak of swine foetal mummification associated with porcine parvovirus. *Austr. Vet. J.* 53(2):105-106, 1977.
11. HUCK, R.A. & LAMONT, P.H. Virus diseases. In LAING, J.A. Edt. *Fertility and infertility in domestic animals*. London, Baillere & Tindall, p. 160-170, 1979.
12. JOO, H.S.; DONALDSON WOOD, C.R.; JOHNSON, R.H. Rapid diagnostic techniques for detection of porcine parvovirus infection in mummified fetuses. *Austr. Vet. J.* 52(1):51-52, 1976.
13. JOO, H.S. & JOHNSON, R.H. Porcine parvovirus: a review. *Vet. Bull.* 46(9):653-660, 1976.
14. JOO, H.S. & JOHNSON, R.H. Observations on rapid diagnosis of porcine parvovirus in mummified fetuses. *Austr. Vet. J.* 53(2):106-107, 1977.
15. McADARAGH, J.P. & ROB, M.G. Experimental reovirus infection of pregnant sows. *Inter. Pig Vet. Soc. Congr.*, Ames, Iowa. DD1, 1976.
16. MENGELING, W.L. Porcine parvovirus: properties and prevalence of a strain isolated in the United States. *Am. J. Vet. Res.* 33(11):2239-2248, 1972.
17. MENGELING, W.L.; CUTLIP, R.C.; WILSON, R.A.; PARKES, J.B.; MARSHALL, R.F. Fetal mummification associated with porcine parvovirus infection. *J. Am. Vet. Med. Ass.* 166(10):993-995, 1975.
18. MENGELING, W.L. & CUTLIP, R.C. Reproduc-

- tive failure of swine associated with porcine parvovirus infection. Inter. Pig Vet. Soc. Congr., 49, Ames, Iowa. DD4, 1976.
19. MENGELING, W.L. Prevalence of porcine parvovirus induced reproductive failure. an abattoir study. J. Am. Vet. Med. Ass. 172(11):1291-1294, 1978.
 20. MENGELING, W. L. Porcine parvovirus infection. In LEMAN, A.D. y col. Edts. Diseases of swine. 5ª ed., Ames, Iowa State University, p. 352-365, 1981.
 21. MORIMOTO, T.; KUROGI, H.; MIURA, Y.; SUGIMORI, T.; FUJISAKI, Y. Isolation of Japanese encephalitis virus and hemoagglutinating DNA virus from the brain of stillborn piglets. Natl. Inst. Anim. Health Quart. 12:127-136, 1972.
 22. MORIMOTO, T.; FUJISAKI, Y.; ITO, Y.; TANAKA, Y. Biological and physicochemical properties of porcine parvovirus recovered from still born piglets. Natl. Inst. Anim. Health Quart. 12:137-144, 1972.
 23. POINTON, A.M.; SURMAN, P.G.; McCLAUD, P.I.; WHYTE, P.B.D. The pattern of endemic parvovirus infection in four pig herds. Austr. Vet. J. 60(6):166-171, 1983.
 24. ROCKERBAUER, G.M.; DULAC, G.C.; BOULANDEZ, P. Demonstration of parvovirus in Canadian swine and antigenic relationships with isolates from other countries. Canad. J. Comp. Med. 42(3):278-285, 1978.
 25. SORENSEN, K.J. & ASKAA, J. Fetal infection with porcine parvovirus in herds with reproductive failure. Acta Vet. Scand. 22(2):162-170, 1981.
 26. THACKER, B.J.; LEMAN, A.D.; HORTGEN, J. P.; SAUBER, T.E.; JOO, H.S. Survey of porcine parvovirus infection in swine fetuses and their dams at a Minnesota abattoir. Am. J. Vet. Res. 42(5):865-867, 1981.
 27. VANNIER, P.; LEUNEN, J.; TILLON, J. P. Role du parvovirus dans les troubles de la reproduction chez le porc. Rec. Med. Vet. 152(9): 509-516, 1976.

EDUARDO H. UMPIERREZ Ltda.

C I R C U L A R E S
F A C T U R A S
F O L L E T O S
L I B R O S
M E M O R I A S
P E R I O D I C O S

R E V I S T A S
S O B R E S
T A L O N A R I O S
T I T U L O S
P A P E L E R I A
E N G E N E R A L

PLAZA INDEPENDENCIA 717
T E L E F O N O : 9 0 0 4 5 9
M O N T E V I D E O - U R U G U A Y

Los lanáres merecen lo mejor!

Banminth® II

Mayor eficacia antihelmíntica
Más producción de lana y carne.
Use y recomiende lo mejor.

pfizer

