### Brote y Aislamiento del Virus de Aujeszky's en Cerdos de Panamá

base

Nicanor Obaldía III, D.M.V., M.S.,\* Enzo Rodríguez L., D.M.V.\*\*,

\*Laboratorio Conmemorativo Gorgas, Investigador asociado. Apdo. 6991, Zona 5, Panamá Rep. de Panamá \*\*Laboratorio de Diagnóstico e Investigación Veterinaria, "Dr. Gerardino Medina H" MIDA, Panamá

PALABRAS CLAVES: Cerdos, Aujeszky's virus Panamá

RESUMEN: Se reporta el aislamiento del virus de Aujeszky's del cerebro de un cerdo lactante procedente de una finca localizada 40 km al oeste de la ciudad de Panamá donde se presentaron 121 muertes en cerdos lactantes de 16 camadas afectas con vómito y signos nerviosos. La mortalidad en las camadas afectadas alcanzó 73%. También se observaron 5 abortos y muerte en 3 cerdas adultas que presentaron signos nerviosos. Una suspensión de cerebro del cerdo lactante al 20% en medio M199 se inoculó en un conejo New Zealand el cual murió 72 horas postinoculación (PI). Posteriormente se inocularon una suspensión del cerebro del Conejo y el cerdo lactante original en células de riñón de cerdo PK15 las cuales mostraron efecto citopático 48 horas PI, resultando IFA positivas al enfrentarlas a un conjugado específico contra Aujeszky's. Hasta donde se tiene conocimiento este es el primer reporte del aislamiento in vitro del virus de Aujeszky's en cerdos de Panamá.

SUMMARY, TITLE: Outbreak and isolation of Aujeszky's virus from pigs of Panama.

Report on the isolation of Aujeszky's virus from the brain of a piglet located on a farm 40 km west of Panama city were 121 piglets from 16 litters died showing vomiting and nervous signs. Mortality rate among litters affected was 73%, In addition 5 abortions and 3 deaths were observed during the outbreak in sows that presented nervous signs. A New Zealand rabbit inoculated with a 20% piglet brain suspension died 72 hours PI. The rabbit and piglet original brain suspensions were subsequently inoculated in PK 15 pig kindey cells and a cithopatic effect was observed 48 hours PI. PK 15 cells were IFA positive when confronted with an Aujeszky's specific conjugate. This is considered to be the first in vitro isolation of Aujeszky's virus from pigs of Panama.

La Pseudorabia (PS) es producida por un herpesvirus DNA de 150-180 nm de diámetro y es considerado un importante patógeno de los cerdos y otros animales. Se conoce como la enfermedad de Aujeszky's por ser este quien la descubriera en 1902. (6) La enfermedad es conocida como prurito maligno o parálisis bulbar. En el ganado, ovejas, perros y gatos se caracteriza por un prurito maligno o parálisis. (4) La PS se encuentra extendida en Europa, Estados Unidos, Centro y Suramérica, y países de Asia (4,6) ocasionado perdidas millonarias cada año. (5) Todos los virus de PS estudiados pertenecen al mismo serotipo. Aunque las cepas son indistinguibles serológicamente, existe variación en la virulencia y características biológicas. (1,8) Como otros herpesvirus, el virus de PS se puede replicar en una gran variedad de células de mamíferos y el conejo es el animal de laboratorio mas sensible. (1,5,6)

La enfermedad de PS puede ocurrir de forma clínica o subclínica, sin embargo la morbilidad y mortalidad entre cerdos neonates es la mas alta. La mortalidad en camadas jóvenes puede alcanzar el 100% y 40-60% en animales de tres a cuatro semanas. Los brotes en animales de engorde van precedidos de signos nerviosos, temblores, convulsiones, vómito, salivación, movimiento en círculo y de pedaleo, la muerte sobreviene precedida de convulsiones y postración. Se ha observado una forma respiratoria en cerdas jóvenes y multíparas. Abortos pueden ocurrir a la mitad o fin de la gestación. (4,6)

La protección con vacunas recombinantes que expresan la GP50 y GII además de vacunas a virus vivo modificado, virus muerto o vacunas con delesión genética en las proteína GP1 y GPII a fin de diferenciar entre animales infectados y vacunados mediante una prueba de ELISA selectiva ha facilitado el control y la erradicación de la PS. (1,8)

La PS se detecto en Panamá en 1967 cuando se diagnosticaron los primeros brotes (García Mora R. comunicación personal), su presencia se ha sospechado desde entonces. Sin embargo su resurgimiento ocasionando perdidas económica ostensibles en este brote justifica el establecimiento de una campaña nacional de control y erradicación.

Los objetivos del presente reporte son los de establecer la importancia económica y el diagnóstico diferencial con otras enfermedades tales como el Cólera Porcino, Intoxicación por sal-privación de agua, enfermedad del edema e intoxicación por insecticidas elorinados. (9) La amenaza del Cólera Porcino Clásico reportado recientemente en Costa Rica (Mida boletín epidemiológico mensual 1994), presenta especial interés en el diagnóstico diferencial. Además, se presenta el primer aislamiento in vitro del virus de la PS y su resurgimiento en Panamá.

#### HISTORIA DEL CASO

Una finca porcina localizada 40 Km al oeste de la ciudad de Panamá reportó el día 18 de Febrero de 1994 a uno de nosotros que la mortalidad en cerdos lactantes había sobrepasado los limites normales y que cerdos lactantes morían con signos nerviosos. El día 21 de Enero se había registrado el caso índice con signos nerviosos y muerte. Inmediatamente se procedió a visitar la finca y tomar muestras de varios cerdos lactantes muertos ese día con signos nerviosos, temblores y vómito. El día 15 de Marzo se realizo IFA directa sobre cortes de cerebro por congelación del cerdo lactante y del conejo resultando positivas. El día 18 de marzo se realizo el diagnostico por IFA de células PK 15 inoculadas con el cerebro del conejo New Zealand que se había inoculado el jueves 10 de Marzo con un macerado del cerebro de un cerdo lactante.

#### MATERIALES Y METODOS

#### Epizootiología

Para este trabajo se analizaron los registros de producción y mortalidad de la finca durante el período comprendido entre el 1 de Enero y el 12 de Marzo de 1994. Se analizaron: numero de partos, lechones nacidos, lechones vivos, momificados, mortalidad con signos nerviosos, y por otras causas. Además se registraron el numero de abortos y la mortalidad general.

#### Aislamiento y Detección Viral

Se tomaron muestras para aislamiento y detección viral e histopatológica del cerebro de un cerdo lactante muerto con signos nerviosos que incluían temblores generalizados y vómito. Las muestras se transportaron hasta el laboratorio refrigeradas y luego se congelaron a -20°C hasta su inoculación. El cerebro original del cerdo se macero y se inocularon 5 ml de una suspensión al 20% en medio M199 (Gibco, USA) que contenía 5% de suero fetal bovino y Penicilina Estreptomicina en forma subcutánea en un conejo New Zealand macho adulto.(3) El mismo se mantuvo en aislamiento hasta su muerte, realizando la necropsia y extrayendose el cerebro del cual se tomaron muestras para aislamiento, detección viral e histopatología. Mediante la técnica de inmunofluorescencia directa utilizando un conjugado anti-Aujeszky's se realizaron cortes por congelación en un criostato (IEC, USA) del cerebro del conejo y el cerdo lactante original, incubandose por 30 minutos a 37°C, lavándose por 10 minutos

con PBS pH 7.2 y montándose con glicerina buffer pH 7.2, observándose en un microscópico de IFA Leitz (Wetzlar, Alemania).(7) Posteriormente, se inocularon células PK 15 en tubos Leighton con laminillas con el macerado original del cerdo y con un macerado al 20% en medio M199 que contenía 5% de sucro fetal bovino y Penicilina Estreptomicina del cerebro de conejo. El inoculó se adsorvio por 1 hora a 37°C, descartándose y reemplazándolo con medio M199 que contenía 5% de suero fetal bovino y Penicilina Estreptomicina, manteniéndose a 37°C, y observándose diariamente hasta obtener efecto citopático. Las laminillas que presentaban efecto citopático se fijaron con acctona mantenida en el congelador a -20°C por 1 hora procediéndose posteriormente a enfrentarlas a un conjugado anti- Aujeszky's diluido 1:32 e incubandose por 1 hora a 37°C. Las laminillas fueron lavadas con PBS pH 7.2, montadas con glicerina buffer y observadas en un microscopio de fluorescencia marca Leitz, (Wetzlar, Alemania). (7) La esterilidad de los inoculos se comprobó por inoculación de muestras de cerebro en medio de Tioglicolato (GIBCO, USA).

#### Hispatología

El cerebro del cerdo lactante y del conejo inoculado se fijaron en formalina buffer 10% y se procesaron y tiñeron con Hematoxilina & Eosina según las técnicas convencionales.

#### RESULTADOS

#### Epizootiología

Durante el periodo comprendido entre el 1 de Enero al 12 de Marzo se reportaron 51 partos con 509 lechones nacidos de los cuales 468 fueron vivos y solo hubo 1 momificado. El caso índice se presento el 21 de enero. El número de cerdos muertos con signos nerviosos, temblores y vómito fue de 121 y por otras causas de 53. Durante el mismo periodo se observaron 5 abortos a terminó con fetos normales. También se observaron 3 muertes en cerdas adultas que presentaron signos nerviosos, vómito, temblores y tos. La incidencia de la enfermedad en las camadas durante este periodo fue de 16/51, (31.3%). Eso representó un 73.3% de mortalidad en las camadas afectadas y un 25% de mortalidad general del total de cerdos nacidos vivos durante el mismo periodo. La incidencia de la enfermedad se puede observar en la Fig. 1 en donde existen 3 mesetas o rebrotes. La edad promedio de las camadas al momento de iniciar la enfermedad fue de 8.94 +/-5.40 días. Las perdidas económica se calcularon en base a 121 cerdos a termino con una mortalidad de 15%, lo cual se estimo en \$ US 20,000.

#### Aislamiento y Detección Viral

EL conejo New Zealand inoculado murió 72 horas PI. La IFA directa realizada a los cortes por congelación del cerebro del conejo y del cerdo resultaron positivas. Se observo efecto citopático en las células PK15 inoculadas con el cerebro del conejo 48 horas PI, las cuales al enfrentarlas con un conjugado anti- Aujeszky's (Ames, Iowa) resultaron positivas

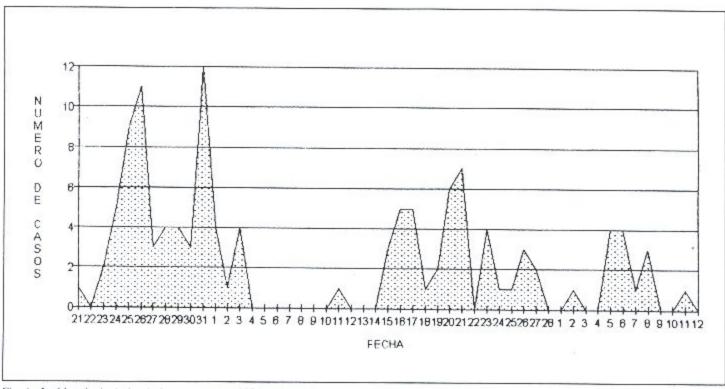


Fig. 1. Incidencia de Aujeszky's enero-marzo 1994,

#### Hispatología

En los cortes del cerebro del conejo inoculado y teñidos con H & E se observo infiltración perivaseglar mononuclear en los capilares de la corteza cerebral (Fig. 2). En los cortes del cerebro del cerdo lactante tenidos con H & E se observo neuronofagia, gliosis e infiltración linfoide de las meninges.

#### DISCUSION

Las lesiones cerebrales de infiltración mononuclear perivascular conjuntamente con el periodo de incubación, la

Fig. 2. Corte histopatológico del cerebro de conejo inoculado mostrando infiltración perivascular mononuclear en vasos sanguíneos X 400.

muerte del conejo New Zealand, IFA directa sobre cortes por congelación positiva además del efecto citopático observado en las células PK15 y su reactividad frente a un conjugado especifico anti Aujeszky's nos permiten concluir que la mortalidad observada en los lechones de la finca objeto de este estudio se debió a la infección producida por el virus de Aujeszky's.

En Norte, Centro y Suramérica la PS ocasiona perdidas económica perceptibles en la mayoría de los brotes. (4) Sin embargo, en nuestro país, muy poco se sabe en relación al impacto que la misma tiene sobre la industria porcina nacional en forma subclínica. El brote presentado en este reporte permitió medir

cuantitativamente las pérdidas económicas cuando la enfermedad se presenta en forma clínica por primera vez a un finca. Esto justifica la toma de medidas de control y erradicación por parte de las autoridades nacionales.

En el brote de PS observado en este reporte no se ha podido determinar la procedencia del virus. El virus de PS puede transmitirse en animales portadores, semen<sup>(6)</sup> y recientemente se ha encontrado evidencia circunstancial que el mismo puede diseminarse por el viento de una finca a otra.<sup>(2)</sup> Aunque el virus ha sido aislado de numerosas especies silvestres, su importancia como reservorios y diseminadores del virus no se ha demostrado. Las ratas, mapaches, zariguellas y coyotes se han encontrado infectados en la naturaleza y su fuente de infección se cree puede ser la alimentación de los mismos con cerdos muertos infectados.<sup>(4)</sup> Todos estos animales han sido reportados en Panamá y la

posibilidad de un modo similar de diseminación debe ser estudiada. El aislamiento e identificación del virus mediante inmunofluorescencia directa permitió establecer un diagnóstico definitivo de PS en el termino de 1 mes. Lo cual coincide con el tiempo para la identificación de otros agentes reportados en cerdos de Panamá. (10,11) Estos ejemplos indican que cualquier otra enfermedad animal que afecte los cerdos como por ejemplo el Cólera Porcina Clásico que recientemente ha sido reportado en Costa Rica en forma epizoótica pudiese tener el mismo tiempo de respuesta y diagnóstico.

#### BIBLIOGRAFIA

- Brockmeier SL, Lager KM, Tartaglia J, et. al.: 1993. Vaccination of pigs against Pseudorabies with highly attenuated vaccinia (Nyvac) recombinant viruses. Veterinary Microbiology. 38:1-2.
- Christensen LS, Mortensen S, Botner A, Stra Ndbygaard BS, et. al.: 1993. Further evidence of long distance airborne transmission of Aujeszky's disease (Pseudorabies) virus. Veterinary Record. 132:317-321.
- Cottral GE.: 1978. Manual of standardized methods for veterinary microbiology. Cornell Univ. Press. Ithaca, New York. pp 1312-134.
- Crandell RA.: 1986. Porcine Pseudorabies (Aujeszky's Disease) In: Current Veterinary Therapy. Food Animal Practice 2. ed. J.L. Howard. W.B. Saunders Co. USA. pp 534-536.

- Fenner F.: 1987 Veterinary virology Adacemic Press pp. 339-373. Orlando FI.
- Gustafson DP: 1981, Pseudorabies. In: Diseases of Swine. ed. Leman et. al., Fifth edition: Iowa State U. Press. Iowa USA. pp. 209-223.
- Hill HT, et. al.: 1977. Recommended minimum standards for diagnostic tests employed in the diagnosis of Pseudorabies (Aujeszky's disease). Amer. Assoc. Veterinary Laboratory Diagnosticians. 20th Annual Proceedings. pp. 375-390.
- Motha MJX, Horner GW, Tham KM, Ralston JC.: 1993. A Comparision of the Efficacy of two commercial Aujeszky's disease vaccines with glycoprotein I deletion in Pigs. New Zealand Vet. Journal. 41:1-6.
- Obaldía N.III. 1991. Polioencefalomalacia en cerdo asociada a una intoxicación por sal-privación de agua. Notas Vet. 1(3):20-23.
- Obaldía N.III. 1991. Presencia de un Treponema sp. en cerdos con un proceso diarréico mucohemorrágico en Panamá. Revista Asociación Colombiana de Médicos Veterinarios. 36:4-6.
- Obaldía N. III. 1991. Outbreaks of Porcine Parvovirus. Disease in Panama. Trop. Anim. Hlth. Prod. 23: 181-185.

# KETOFEN

(KETOPROFENE)

## ANTI-INFLAMATORIO NO ESTEROIDE, CON POTENTE ACTIVIDAD ANTI-ALGICA Y ANTI-PIRETICA.

PRESENTACION:

KETOFEN 10% INYECTABLE, FRASCO DE 10 ml.

KETOFEN COMPRIMIDOS CAJA DE 10 TABLETAS DE 10 mg.

(PARA PEQUEÑAS ESPECIES)

DISTRIBUYE:

Agencias Robles, S.A.

CHITRE

CALLE MELITON MARTIN TEL.: 96-4986 / 96-1568 PANAMA

AVE. JUSTO AROSEMENA Y CL, 27 TEL.: 25-7936 / 25-7904

ES UN PRODUCTO RHONE MERIEUX - FRANCIA