

### P 03.

## Comparación entre las técnicas de inmunohistoquímica y PCR para la detección de circovirus porcino tipo 2 en linfonódulos.

### *Comparison between immunohistochemistry and PCR for porcine circo virus type 2 detection in lymph nodes.*

Piñeyro P<sup>12</sup>; Pereda A<sup>3</sup>; Quiroga MA<sup>1</sup>; Cappuccio JA<sup>1</sup>; Machuca MA<sup>1</sup>; Perfumo CJ<sup>1</sup>

1. Cátedra de Patología Especial, Fac. de C. Veterinarias, UNLP, 60 y 118, 1900, La Plata. pineyropablo@fcv.unlp.edu.ar  
2. Becario Conicet.

3. Instituto de Virología- CICV y A- INTA Cautelar

El síndrome multisistémico de adelgazamiento post-destete (SMAP) se caracteriza clínicamente por adelgazamiento progresivo, linfadenomegalia, diarrea, disnea, palidez cutánea e ictericia. La presencia de circovirus porcino tipo 2 (PCV-2) es uno de los factores determinantes para la presentación de SMAP. Las lesiones macroscópicas son agrandamiento de linfonódulos, focos blancos en riñón, hepatomegalia, úlcera gástrica, consolidación pulmonar con edema interlobulillar. Las lesiones microscópicas características son depleción en tejido linfoide e infiltración granulomatosa, nefritis intersticial y neumonía. Para su diagnóstico se consideran criterios a nivel individual del establecimiento. A nivel individual se deben observar, signos clínicos, lesiones histopatológicas características y determinar la presencia del agente *in situ*, por inmunohistoquímica (IHQ) o hibridación *in situ* (HIS). A nivel establecimiento se debe observar un aumento de la mortalidad estadísticamente significativo, y un animal de un grupo mínimo de cinco debe cumplir los criterios del diagnóstico individual.

El objetivo de este trabajo fue comparar los resultados obtenidos mediante la técnica de IHQ con la técnica de PCR para la detección de PCV-2 en linfonódulos provenientes de casos sospechosos de SMAP.

Fueron evaluados 89 casos de cerdos entre 36 y 140 días de edad, con signología compatible con SMAP. Los casos fueron considerados positivos sobre la base de signos clínicos, hallazgos de necropsia y lesiones histopatológicas características e IHQ positivos. La inmunomarcación de PCV-2 se realizó con un anticuerpo primario policlonal (VMRD, Inc. USA) en dilución 1:500. Como anticuerpo secundario, se utilizó IgG anti-cerdo biotinilada (DakoCytomation, USA). Como sistema de detección se utilizó LSAB2 (DakoCytomation, USA) y diaminobencidina como cromógeno. Para la técnica de PCR se extrajeron con sacabocado de 25 – 50 mg de linfonódulo de los bloques incluidos en parafina. El material fue desparafinado y mantenido a -80°C hasta su procesamiento. Las

muestras se agruparon por granja y por año de recolección, procesándose un total de 14. La extracción del ADN se realizó con un equipo comercial siguiendo las instrucciones del fabricante (DNA QIAamp DNA Mini Kit, Qiagen Inc. Valencia, CA). Se utilizaron dos primers específicos para la detección de PCV-2. El primer p8 ubicado en la posición (1776- 18 de PCV-2), común para PCV-1 y PCV-2 y el primer p16 (se ubica en la posición 401 – 383) específico para PCV-2.

En los 89 linfonódulos estudiados se observó, depleción linfoide en 83 casos (93.3%), infiltración de células histiocíticas en 53 (59.6%), células gigantes en 36 (40.4%), necrosis en 5 (5.6%), linfadenitis en 6 (6.7%) y cuerpos de inclusión en 4 (4.5%). Mediante la técnica de IHQ 50 linfonódulos fueron positivos (n=89). En relación con los linfonodos positivos por IHQ y las lesiones microscópicas, se observó inmunomarcación en: 38/83 (45.78%) de los casos con depleción linfoide, 31/53 (58.49%) de aquellos con infiltración histiocítica, 22/36 (61.11%) con células gigantes, 3/5 (60.0%) con necrosis, 4/6 (66.67%) con linfadenitis y 3/4 (75%) con cuerpos de inclusión. De los 14 grupos de muestras analizadas por PCR solo el grupo 9, el cual contenía dos muestras, fue negativo. Los restantes 13 grupos, con un total de 48 muestras, fueron positivos a PCV-2.

La técnica de IHQ ha demostrado tener alta sensibilidad, a pesar que es necesario el empleo de métodos de recuperación antigénica debido a la modificación del tejido por la fijación en formol. En contraste, la detección del genoma por PCR es menos susceptible a los cambios post-fijación con formol. Asimismo, el material procesado para PCR comprendió una muestra más representativa que el corte de 3 a 4 µm utilizados en la técnica de IHQ. Sin embargo la utilización de esta técnica, hasta el día de hoy, por sí sola no es suficiente para definir un cuadro de SMAP y debe ser interpretada en conjunto con las lesiones histopatológicas características.