

# Estudios hematológicos en la fiebre porcina clásica aguda. Aportaciones a la patogénesis de la diátesis hemorrágica

Norma L. Calderón Apodaca\*  
Rosa Ma. García Escamilla\*\*  
Leopoldo H. Paasch Martínez\*\*\*

## Resumen

Con objeto de establecer un modelo animal para el estudio de la patogenia de las diátesis hemorrágicas agudas, se llevaron a cabo estudios de parámetros hemostáticos para la evaluación de los mecanismos de coagulación, así como pruebas de biometría hemática con especial énfasis en las cuentas plaquetarias, en 16 cerdos infectados experimentalmente con el virus de la fiebre porcina clásica y 4 cerdos testigos no infectados. En el estudio no se detectaron cambios significativos en los parámetros de evaluación de la coagulación intrínseca y extrínseca, pero sí se presentó una significativa reducción en la cuenta plaquetaria a partir del tercer día posinfección. Se discute la probabilidad de que la trombocitopenia constituye la base de la diátesis hemorrágica y que es consecuencia de un daño del virus a las plaquetas o a sus precursores, e independiente a trastornos de la coagulación.

## Introducción

La fiebre porcina clásica (FPC) es una enfermedad viral de los cerdos, su característica es la diátesis hemorrágica.<sup>1</sup> De acuerdo con diversos autores,<sup>2,3</sup> se considera que en el curso de la FPC aguda se presentan diversos defectos del sistema hemostático. La multiplicidad de las alteraciones sugiere que la coagulopatía por agotamiento de los factores de la coagulación, es, en parte, responsable de la diátesis hemorrágica. Con el fin de apoyar esta conclusión, debe enfatizarse que al margen de que la diátesis hemorrágica masiva ocurra en varios órganos, también se presenta trombosis

múltiple, principalmente en bazo, riñones e hígado.<sup>8</sup> Esos trombos pueden ser considerados como una evidencia de la coagulopatía por agotamiento de los factores de coagulación, en la medida que son ricos en fibrina, demostrables histológicamente mediante tinciones especiales y ultraestructuralmente por medio de la microscopía electrónica.<sup>7</sup> Sin embargo, existen evidencias que la trombocitopenia es de importancia en la patogenia de las alteraciones hemostáticas en la FPC, independientemente de la coagulación intravascular diseminada (CID).<sup>2</sup> Hasta donde se conoce, no se ha demostrado que el virus de la FPC infecte a las plaquetas o a sus precursores; sin embargo, es factible que esto ocurra, en virtud de la patogénesis que se ha descrito para este agente.<sup>8</sup>

En condiciones naturales el virus de la FPC ingresa por vía oronasal; después de su replicación inicial en las células epiteliales de las criptas de las tonsilas, el virus invade al tejido linfóide y a los macrófagos y es transportado a los nódulos linfáticos regionales. En ese sitio se multiplica y da origen a una viremia inicial. Posteriormente se producen grandes cantidades del virus en el bazo, aparato digestivo y médula ósea.<sup>5,6</sup>

El hecho de que el virus pueda aislarse de la médula ósea implica la probable infección de los megacarioblastos, promegacariocitos y megacariocitos precursores de las plaquetas.<sup>5</sup>

En la medida que el virus se encuentra en la médula ósea y en estrecho contacto con los endotelios capilares, el origen celular de las plaquetas ofrece una prospectiva de estudio de la FPC para determinar el origen de una trombocitopenia previa a la agregación plaquetaria, característica de un proceso diseminado de trombosis intravascular.

El presente trabajo está orientado hacia el estudio de las evidencias hematológicas de posibles mecanismos involucrados en la diátesis hemorrágica de la FPC aguda, con base en que este modelo ofrece considerables analogías con la patogénesis de las tendencias hemorrágicas en otras enfermedades virales agudas tanto en el hombre como en los animales.

Con el propósito de esclarecer la patogenia de la diátesis hemorrágica en la FPC aguda, se diseñó el presente estudio, este pretende los siguientes objetivos:

---

Recibido para su publicación el 25 de junio de 1996.

\* Departamento de Patología, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Nacional Autónoma de México, 04510, México, D.F.

\*\* Departamento de Diagnóstico Clínico, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Nacional Autónoma de México, 04510, México, D.F.

\*\*\* Departamento de Producción Animal: Aves, Facultad Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Nacional Autónoma de México, 04510, México, D.F.

1. Evaluar mediante pruebas específicas, el sistema de coagulación intrínseco y extrínseco con el fin de detectar un posible agotamiento de factores de coagulación.

2. Investigar los cambios en las cuentas plaquetarias y su posible relación con la diátesis hemorrágica.

## Material y métodos

Los estudios se realizaron en 20 cerdos, entre hembras y machos, de raza híbrida, provenientes de varias lechigadas. Al inicio del experimento los animales pesaron entre 15 y 20 kg con edades entre 6 y 8 semanas. Los cerdos se obtuvieron de granjas con certificación libre de FPC. Antes de iniciar el experimento se constató la ausencia de anticuerpos contra la FPC mediante la prueba de seroneutralización.

De los veinte cerdos iniciales, 16 se infectaron con una sola dosis del virus de la FPC,<sup>10</sup> DL 50%, cepa Ames Iowa por vía intramuscular, 4 meses se utilizaron como testigos.

Tanto los cerdos infectados como los testigos se alojaron en el bioterio de bioseguridad de la Facultad de Medicines Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Nacional Autónoma de México.

Los animales se dividieron en 2 lotes, identificados como 1 y 2. El lote 1 incluye los animales infectados; el lote 2 que se aisló del lote 1, estuvo integrado por los testigos.

## Estudios hematológicos

Con el propósito de determinar los parámetros hemostáticos, así como las pruebas de biometría hemática, se obtuvo diariamente sangre completos de 6 de los 20 animales, durante tres días antes de la inoculación viral y posteriormente de 6 animales infectados durante 8 días. Se muestreó a los cerdos en forma alternada, de tal manera que un mismo animal no fue sangrado en días consecutivos. Se les extrajo a cada uno 7 ml de sangre mediante punción venosa en el seno de las yugulares. La muestra se colocó dividida en 2 tubos de ensayo. Uno de estos contuvo sales de ácido etilendiaminotetracético (EDTA) en proporción de una gota por cada 3 ml de sangre, el otro contuvo citrato trisódico al 3.8% en proporción de 1:9 para 4 ml de sangre.

Para obtención de plasma sin paquete plaquetario, se centrifugaron los tubos con sangre citratada a razón de 1000 xg durante 10 minutos. Posteriormente el plasma obtenido se congeló a -70°C.

\* Kit APTT, Instrumentation Laboratory, Estados Unidos de América.

\*\* Kit PT-Fibrinógeno HS, Instrumentation Laboratory, Estados Unidos de América.

\*\*\* Kit IL Test tiempo de trombina, Instrumentation Laboratory, Estados Unidos de América.

Estos kits se utilizan rutinariamente para determinaciones en mamíferos domésticos.

Las muestras sanguíneas con EDTA se utilizaron para conteo plaquetario y para realizar pruebas de biometría hemática.

El análisis de los factores de coagulación incluyó las siguientes determinaciones:

A) Cuenta plaquetaria, mediante el método directo.<sup>4</sup>

B) Biometría hemática completa.

C) Tiempo de tromboplastina parcial activada (TTPa).\*

D) Tiempo de protrombina (TP).\*\*

E) Tiempo de trombina, se utilizó trombina bovina purificada (TT).\*\*\*

Para los 20 animales de estudio, se tomaron los parámetros comparativos respecto de los valores previos a la infección, se evaluaron los parámetros individuales y se determinó su significancia mediante la prueba t de Student.

## Resultados

Todos los animales inoculados presentaron fiebre de 40°C a 41°C a partir del primer día posinfección. En los siguientes días se observó en todos anorexia, letargia, incoordinación, diarrea, vómito y eritema cutáneo.

La Cuenta plaquetaria tuvo un ligero aumento durante los dos primeros días posteriores a la infección, en los días consecutivos hubo una significativa reducción en la Cuenta plaquetaria ( $P < 0.001$ ). Entre tres y cinco días posinfección se observó 47.28% de reducción respecto de los testigos, entre los 6 y 8 días esta reducción alcanzó 78% (Figures 1).

Los resultados de la biometría hemática no mostraron cambios significativos ni desviaciones fuera de los parámetros normales en los valores de hematócrito, hemoglobina, proteínas plasmáticas y fibrinógeno.

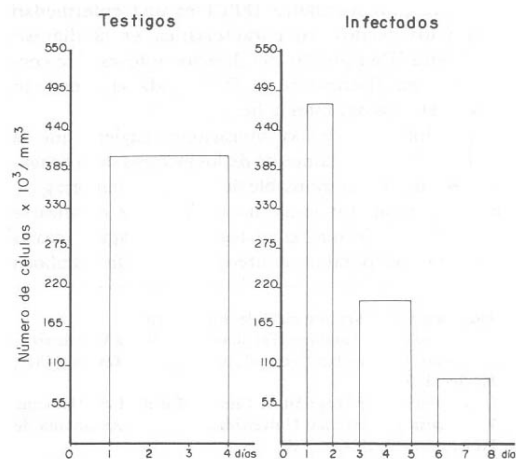


Figura 1. Cuentas plaquetarias de cerdos testigos e infectados.

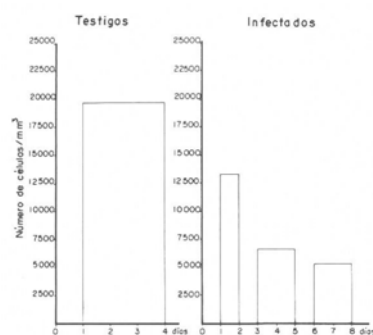


Figura 2. Cuenta leucocitaria de cerdos testigos e infectados.

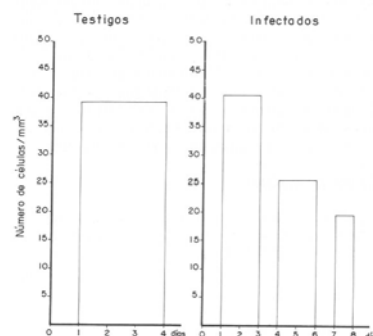


Figura 3. Cuenta de neutrófilos de cerdos testigos e infectados.

La cuenta leucocitaria total tuvo una significativa reducción a partir del primer día posinfección ( $P < 0.001$ ) (Figura 2). Los valores entre el sexto y octavo días posinfección fueron 72% inferiores respecto de los testigos; por su parte, las reducciones de 1 a 2 días y 3 a 5 días posinfección fueron de 37% y 67%, respectivamente.

Las cuentas linfocitarias permitieron determinar linfocitosis a partir del sexto día posinfección con incremento promedio de 38% por encima de los valores normales.

La cuenta neutrofílica tuvo un ligero incremento entre el primero y tercer días posinfección; entre el cuarto y sexto días la cuenta neutrofílica disminuyó 35%; finalmente entre el séptimo y octavo días disminuyó 50% respecto de los testigos (Figura 3).

En referencia a los parámetros de evaluación de la coagulación intrínseca y extrínseca, consistentes en el tiempo de tromboplastina parcial activada, tiempo de protrombina y tiempo de trombina, no se detectaron cambios significativos respecto de los testigos ni desviaciones fuera de los valores normales para la especie.

## Discusión

Desde hace más de cincuenta años se sabe que el virus de la FPC ejerce un efecto directo sobre el sistema vascular y que los signos clínicos y lesiones macroscópicas resultan del daño a los capilares, precapilares, arteriolas y venas. Por esa razón en las lesiones macroscópicas se presenta congestión, hemorragia o infarto, dependiendo de la localización anatómica, de la severidad y curso de los cambios vasculares.<sup>3</sup>

La degeneración y necrosis generalizada de las células endoteliales, hacen suponer que la liberación de los factores coagulantes, tales como la tromboplastina tisular o bien la exposición de la colágena subendotelial, desencadenan los mecanismos intrínsecos y extrínsecos de la coagulación.<sup>1</sup>

Con base en dichas circunstancias, es factible suponer que las diátesis hemorrágicas en la FPC tuvieran un importante componente patogénico en el agotamiento

de los factores de la coagulación, derivado de la trombosis capilar diseminada.<sup>2</sup> Sin embargo, en el presente estudio no se detectaron cambios significativos en los parámetros de evaluación de la coagulación intrínseca y extrínseca. En este sentido, es importante destacar que a partir del tercer día posinfección, hubo una significativa reducción en la cuenta plaquetaria, así como una reducción de las cuentas de otros elementos de origen mieloide; por ejemplo, los neutrófilos. Más aún, la leucopenia se detectó desde el primer día posinfección. Como consecuencia, de acuerdo con los hallazgos del presente estudio, se supone que la base de las alteraciones hemostáticas se debe a la trombocitopenia. En la medida que esta es independiente de los trastornos de la coagulación, puede pensarse que su reducción no es resultado de su agregación en el proceso de trombosis, por lo menos en la fases iniciales, sino que es muy probable que exista un daño directo del virus a las plaquetas y posiblemente a la trombopoyesis en la médula ósea. Futuras investigaciones sobre cambios ultraestructurales en las plaquetas y sus precursores deberán corroborar estas hipótesis.

## Abstract

In order to establish an animal model for the study of the pathogenesis of acute haemorrhagic diathesis, intrinsic and extrinsic pathways of coagulation were evaluated and blood cell counts were determined with special emphasis on platelet counts on 16 experimentally infected pigs with Classical Swine Fever virus and on four non infected controls. In the present study no coagulation disorders could be detected, however, there was a significant reduction in platelet counts detectable after the third day postinfection. Thrombocytopenia as a probable cause of disseminated haemorrhages is discussed. This disorder is attributed to a direct viral effect on platelet and/or its precursors and is independent of platelet aggregation in disseminated intravascular coagulation.

## Literatura citada

1. Debbie, J.G. and Abelseth, M.K.: Pathogenesis of epizootic hemorrhagic diseases. I. Blood coagulation during viral infection. *J. Infect. Dis.*, 124:217-222 (1971).
2. Heene, D., Hoffmann-Fezer, G., Hoffmann, R., Weiss, E., Müller Berghaus, G. und Lasch, H.G.: Gerinnungsstörungen bei akuter Schweinepest. *Beitr. Pathol. Bd.*, 144: 259-271 (1971).
3. Kernkamp, H.C.H.: Lesions of hog cholera: Their frequency of occurrence. *J. Am. vet. med. Ass.*, 95:159-166 (1939).
4. Maxine, M.B.: Manual de Patología Clínica Veterinaria. *Limusa*, México, D.F., 1984.
5. Ressag, A.A.: Studies on the pathogenesis of hog cholera. *Ztrbl. Vet. Med.*, 20: 256-271 (1973).
6. Susa, M., König, M., Saalmüller, A., Reddehase, M.J. and Thiel, H.J.: Pathogenesis of classical swine fever: B-lymphocyte deficiency caused by hog cholera virus. *J. Virol.*, 66:1171-1175 (1992).
7. Terpstra, C.: Hog cholera: An update of present knowledge. *Br. vet. J.*, 147. 397-406 (1991).
8. Trautwein, G.: Pathology and pathogenesis of diseases. In: Classical Swine Fever and Related Infections. Edited by: Liess, B., 27-54. *Martinus Nijhoff Nordrecht*, Boston, Massachussets, 1988.