

# Influencia del plasma porcino secado por atomización en dietas de iniciación asociadas con un programa convencional de vacunación en el desarrollo productivo desde destete hasta finalización

Joan Pujols<sup>1</sup>, Joaquim Segalés<sup>2,3</sup>, Javier Polo<sup>4</sup>, Carmen Rodríguez<sup>4</sup>, Joy Campbell<sup>5</sup> y Joe Crenshaw<sup>5</sup>

## Resumen

**Antecedentes:** Los programas de vacunación convencionales usan una sola inyección de una vacuna combinada contra circovirus porcino tipo 2 (PCV2) y *Mycoplasma hyopneumoniae* (MHYO) y pueden provocar una fuerte respuesta inmune que reduzca el consumo de alimento durante 24 a 48 horas posteriores a la vacunación. Frecuentemente estas vacunas se proporcionan al destete, que es un periodo de estrés crítico en el cual el consumo de alimento ya se encuentra comprometido. El plasma porcino secado por atomización (SDPP por sus siglas en inglés) es una fuente de proteína usada en dietas de iniciación que incrementa el consumo de alimento de los cerdos destetados. Los objetivos de este estudio eran determinar los efectos de un programa de vacunación convencional cuando se incluía el SDPP en dietas de destete respecto al desarrollo de anticuerpos y al desempeño productivo desde destete hasta finalización de los cerdos.

**Resultados:** Los cerdos alimentados con dietas de arranque con SDPP mejoraron su peso corporal, su promedio de ganancia diaria y su promedio de consumo de alimento diario durante los 14 días iniciales después del destete. También hubo una mejoría en la eficacia alimentaria durante los 7 días iniciales post-destete y estas respuestas productivas fueron independientes de la vacunación. La vacunación a los 3 días del destete no provocó ningún efecto significativo en el desarrollo productivo durante los 14 días iniciales post-destete. Se observó que la mortalidad acumulada se redujo en cerdos alimentados con dietas de iniciación con SDPP, mientras que los cerdos vacunados también redujeron su mortalidad de los días 45 al 145. Ambos, cerdos vacunados y cerdos alimentados con dieta de arranque con SDPP, tuvieron mayor peso de carcasa. Se desafió un cerdo por corral con PCV2 en el día 63 para observar la respuesta inmune. Un mayor porcentaje de cerdos vacunados fueron seropositivos a anticuerpos contra PCV2 y MHYO en los días 35, 63, y 78. Los valores de anticuerpos contra PCV2 fueron más altos en cerdos vacunados en los días 35 y 63, pero más bajos en el día 146. El porcentaje de muestras positivas al genoma PCV2 en suero se redujo en cerdos vacunados en los días 117 y 146. Los valores de anticuerpos contra MHYO aumentaron en cerdos vacunados en los días 35, 63 y 78.

**Conclusiones:** La vacunación proporcionó una respuesta de anticuerpos a largo plazo contra PCV2 y una respuesta de anticuerpos moderada, pero más débil, contra MHYO en cerdos al principio de la finalización desafiados con PCV2. Utilizando SDPP en las dietas de iniciación conjuntamente con la vacunación se observaron mejores efectos beneficiosos a largo plazo en la supervivencia al mercado y al peso de la canal.

**Palabras Clave:** Plasma Secado por atomización, *Mycoplasma hyopneumoniae*, Circovirus porcino tipo 2, Cerdos, Vacunación, Estrés al destete, Anticuerpos, Canal, Carcasa

## Antecedentes

El plasma porcino secado por atomización (SDPP) o el plasma bovino secado por atomización (SDBP) han sido usados en dietas de lechones debido a sus efectos beneficiosos ampliamente documentados en el crecimiento post-destete, en el consumo de alimento y en los índices de morbilidad y supervivencia [1, 2]. En estudios anteriores, bajo condiciones de campo, los cerdos que sufrieron la enfermedad sistémica del circovirus porcino tipo 2 (PCV2-SD por sus siglas en inglés, anteriormente conocido como síndrome de debilitamiento multi-sistémico post-destete) habían mejorado su rendimiento y supervivencia cuando habían sido alimentados con dietas que contenían SDPP [3, 4]. PCV2 es el agente causal esencial de PCV2-SD, una enfermedad multifactorial con severos impactos económicos mundialmente. PCV2-SD se caracteriza por debilitar, reducir la ganancia de peso, producir linfadenopatía y disnea, afectando mayormente a cerdos desde las 6 semanas de vida hasta su peso de mercado [5].

*Mycoplasma hyopneumoniae* (MHYO) es el principal agente etiológico de neumonía enzootica, una enfermedad respiratoria crónica que afecta principalmente al crecimiento y finalización de los cerdos. MHYO y PCV2 son potenciales contribuyentes etiológicos del complejo respiratorio porcino, el cual incluye bacterias así como agentes virales [6].

La co-infección experimental con MHYO y PCV2 da lugar a una enfermedad clínica más severa en lechones [7, 8] y en adultos [9], aunque no siempre [10]. En todos los casos, las vacunas de PCV2 y MHYO han demostrado buenos resultados en la obtención de buenos títulos de anticuerpos, en la reducción de signos clínicos y en un mejor resultado productivo [11-13]. En general, los productores recomiendan la aplicación de estas vacunas en el periodo de destete.

Sin embargo, los cerdos en el periodo de destete están sujetos a cambios complejos que pueden afectar a su adaptación y crecimiento. La vacunación contra PCV2 y MHYO en el destete puede resultar en una

disminución transitoria del consumo de alimento y de la tasa de crecimiento [14-16]. Con el objetivo de superar dichos efectos indeseables en el desarrollo del crecimiento del cerdo, tras la inyección de la vacuna PCV2 / MHYO es habitual incorporar proteínas de plasma secado por atomización y otros productos con elevada energía digestible en el agua de bebida de los animales [15]. Hay una creciente evidencia de que la nutrición, tanto en cerdos como en otras especies, antes y después del destete puede tener efectos a largo plazo en el intestino, en la interacción de la microbiota y en el desarrollo inmune [17]. Por tanto, para el presente estudio nuestros objetivos eran el determinar los efectos del SDPP en dietas de iniciación proporcionadas a cerdos inyectados en el día 3 post-destete con una sola vacuna combinada contra PCV2 y MHYO, y comprobar el efecto en el desarrollo productivo desde destete hasta finalización, parámetros de la calidad de la canal a matadero, así como la detección del genoma patógeno y el desarrollo de anticuerpos contra PCV2 y MHYO.

## Resultados

Los grupos de tratamiento consistieron en cerdos vacunados (V) o inyectados con solución salina (S) en el día 3 post-destete, los cuales fueron alimentados con dietas de iniciación con (P) o sin (C) SDPP para los primeros 14 días post-destete. Los cerdos fueron asignados en 4 grupos de tratamiento (1 VC, 2 VP, 3 SC, 4 SP) con un diseño factorial 2 x 2 de tratamientos para determinar los efectos sobre el desarrollo productivo desde destete hasta finalización, los resultados de rendimiento de canal a sacrificio, y resultados serológicos durante varios periodos de tiempo. Se realizaron tres comparaciones de tratamientos ortogonales para probar los principales efectos de la vacunación (vacuna vs. cerdos inyectados con solución salina; grupos de tratamiento 1 VC + 2 VP vs. grupos de tratamiento 3 SC + 4 SP), de la dieta (cerdos alimentados con 0% vs 6% SDPP en dietas de destete; grupos de tratamiento 1 VC + 3 SC vs grupos de tratamiento 2 VP + 4 SP), y la interacción de los principales efectos de vacunación y dietas de iniciación (grupos de tratamiento 1 VC + 4 SP vs. grupos de tratamiento 2 VP + 3 SC).

### Resultados del desarrollo en lechones

En la Tabla 1 se presentan los promedios de las variables del rendimiento por corral cuando los cerdos fueron alojados en las instalaciones de crianza del *Institut de Recerca i Tecnologia Agroalimentàries* (IRTA). La información está seccionada por grupo de tratamiento y periodos del experimento. Cuando se comparó el efecto de las dietas de iniciación, se observó que el promedio de ganancia de peso diaria (ADG por sus siglas en inglés) fue mayor en los cerdos alimentados con dietas de iniciación con SDPP durante los días 0-7 y 0-14 post-destete. El promedio de consumo de alimento diario (ADFI por sus siglas en inglés) fue mayor en cerdos alimentados con dietas con SDPP durante los días 0-7, 7-14, y 0-14. La eficacia alimenticia (GF por sus siglas en inglés) mejoró en los cerdos alimentados con dietas de iniciación con SDPP durante los días 0-7, pero se redujo durante los días 7-14. Las comparaciones de tratamientos del efecto de la vacunación y de su interacción con la dieta de iniciación, no fueron relevantes para el ADG, ADFI o GF durante los 14 días iniciales post-destete o durante cualquier otro periodo del periodo de crianza. Después del día 14, cuando todos los cerdos fueron alimentados con una dieta común hasta el final de la etapa de crianza (días 14-48) y por el periodo completo de crianza (días 0-48), no hubo efectos significativos en ADG, ADFI o GF debido a las comparaciones de los tratamientos del efecto de la dieta de iniciación, vacunación o la interacción de la vacunación con la dieta de iniciación.

### Mortalidad y morbilidad

La tasa de mortalidad en los cerdos (Tabla 2) durante los 14 días iniciales post-destete no fue significativa en ninguna de las comparaciones de tratamientos. Durante los días 14-48 y 0-48, la tasa de mortalidad se redujo en los grupos alimentados con dieta de iniciación con SDPP. Durante los días 48-145, los cerdos vacunados redujeron la tasa de mortalidad comparado con los grupos no vacunados. Sobre todo el periodo desde destete hasta finalización (días 0-145), la tasa de mortalidad se redujo en los grupos de cerdos que fueron alimentados con dietas con SDPP. No hubo interacciones significativas con la vacunación y la dieta de iniciación en la tasa de mortalidad durante

ningún periodo de este estudio. Las hembras tuvieron una tasa de mortalidad menor ( $P < 0.01$ ) en los días 14-48 (1.7% vs. 8.3%), en los días 0-48 (2.2% vs. 8.3%) y en los días 0-145 (3.8% vs. 11.1%) comparado con los cerdos machos (la información no se muestra en las tablas).

Aunque la tasa de mortalidad fue alta, ésta fue similar a la habitual en esta granja y fue principalmente a consecuencia de infecciones bacterianas. Aproximadamente el 70% de la mortalidad tuvo lugar entre los días 14 y 48 después de que los cerdos fueran alimentados con la dieta común sin SDPP, pero antes de ser desafiados con la inoculación de PCV2 en el día 63. Casi todos los casos de mortalidad durante los días 48-145 fueron descritos como infecciones bacterianas crónicas asociadas a la mordedura de las colas o por práctica de eutanasia por parálisis del tren posterior.

No en todos los casos fue posible realizar la necropsia, debido al avanzado estado de autólisis del cuerpo. La mayoría de las muertes fueron causadas por infecciones bacterianas sistémicas mostrando poliserositis fibrosa y artritis, y, con menor frecuencia, diarrea colisepticemias y enteritis. Una cierta proporción de animales tuvo un proceso crónico con pérdida de peso; aquellos que murieron mostraron poliserositis fibrosa y pericarditis, consolidación pulmonar cráneo-ventral y/o artritis. Las infecciones por *Haemophilus parasuis*, *Mycoplasma hyorhinis* y *Escherichia coli* podrían estar relacionados junto con otros agentes, pero no se realizaron investigaciones específicas en el laboratorio.

La granja de origen de la manada era seropositiva para PRRSV, y la circulación de éste virus pudo ser un factor potencialmente influyente en las infecciones bacterianas subsecuentes. Sin embargo, los resultados de IDDEX ELISA de 100 muestras tomadas al día 146 del estudio, indicaron una baja frecuencia (12%) de muestras seropositivas para PRRSV, sugiriendo así que PRRSV no había estado circulando anteriormente en el estudio.

Las dietas experimentales eran no medicadas, a excepción de la dieta de transición común que se ofreció en los días 48 – 58 cuando los cerdos fueron trasladados de las instalaciones de crianza a las de pre-engorde. Ésta dieta contenía 200ppm de

amoxicilina, 24 ppm de oxbendazol, y 120 ppm de colistina.

Los cerdos fueron monitoreados diariamente por supervisión visual y los cuidadores aplicaron los tratamientos prescritos después de la inspección clínica veterinaria. Los tratamientos individuales por poliserositis, artritis y neumonía, incluyeron un producto basado en Bencil-penicilina procainica 200,000 UI, dihidrostreptomycin (sulfato) 200 mg y dexametasona (fosfato de sodio) 0.5 mg en la dosis recomendada conforme al peso corporal. El porcentaje de cerdos que recibió medicación individual (varió del 9.9 al 16.6% en todos los grupos de tratamiento), no fue significativamente diferente de la comparativa de los diferentes grupos de tratamientos. En el día 26 del estudio aparecieron varios casos de artritis, y se añadió en el agua de los animales Amoxicilina (trihidratada) 70% a 0.3 g/L durante 5 días.

#### **Peso vivo**

Los resultados del BW (peso vivo por sus siglas en inglés) por cerdo y por día de experimento, desde el destete hasta la finalización (Tabla 2), indicaron que los cerdos alimentados con dieta de iniciación con SDPP tuvieron un promedio de BW más elevado en los días 7, 14, y 21, comparado con los cerdos alimentados con la dieta control. Además, las comparaciones de tratamiento del principal efecto de la vacunación, o la interacción de la dieta de iniciación y la vacunación, no fueron significativas en ningún periodo del estudio. Sí hay efectos significativos respecto al sexo (no se muestra la información en tablas), dado que se mostró que las hembras pesaron más ( $P < 0.03$ ) que los machos en el día 7 (6.51 vs. 6.35 kg), en el día 14 (7.84 vs. 7.58 kg) y en el día 35 (15.67 vs. 15.13 kg); pero en el día 145, los machos pesaban más (102.1 kg) ( $P < 0.01$ ) que las hembras (99.1 kg).

#### **Resultados de la canal**

Debido a la mortalidad de 27 cerdos, la pérdida de identificación de los cuerpos de 36 cerdos, y el rechazo de ocho cerdos en el matadero, solo 292 de los 363 cerdos originales con los que se inició el experimento, fueron usados para los datos de la canal (Tabla 2). De los ocho cerdos que fueron rechazados en el matadero, cuatro

fueron rechazados por hernias y los otros cuatro debido a su bajo BW.

No hubo interacciones significativas en los efectos de la dieta de iniciación por el estado de vacunación para ninguno de los parámetros de la canal. La comparativa de tratamientos del principal efecto de la dieta de iniciación indicó que los cerdos alimentados con dieta con SDPP tuvieron de media un peso más elevado de la canal y de BW en el día 145 (cuando los cerdos fueron clasificados para el matadero), comparado con los grupos alimentados con la dieta de iniciación de control. En los cerdos clasificados en el matadero, los vacunados tuvieron mayor peso de canal y mayor promedio de BW en el día 145, comparado con los cerdos no vacunados. El porcentaje de obtención de carne magra no fue significativo en las comparativas de tratamientos de los efectos de vacunación o de la dieta de iniciación. Además, de los cerdos clasificados para matadero, los machos tuvieron un peso mayor de BW en el día 145 (103.1 kg vs. 100.1 kg), mayor peso a la canal (87.7 kg vs. 85.3 kg), y un mayor porcentaje de carne magra a la canal (58.2% vs. 57.3%) comparado con las hembras (no se muestra la información en tablas).

#### **Valores ELISA y resultados del genoma para PCV2**

Los resultados ELISA para la relación S/P-PCV2 y el porcentaje de muestras seropositivas por grupo de tratamiento y por día de experimento se presentan en la Fig. 1. Un resultado S/P  $> 17$  fue considerado positivo. La comparativa de tratamientos para el efecto de la dieta de iniciación o su interacción con la vacunación, no fueron significativos para ninguno de los periodos y para ninguno de los resultados de ELISA PCV2. El principal efecto de la vacunación fue significativo para la relación S/P y el porcentaje seropositivo de PCV2. Los cerdos vacunados tuvieron porcentajes más altos de muestras seropositivas en los días 35, 63 y 78 comparado con los cerdos no vacunados. Los cerdos vacunados tuvieron una mayor relación S/P contra PCV2 en los días 35 y 63, pero una relación menor de S/P en el día 146 comparado con los cerdos no vacunados. El porcentaje de muestras seropositivas para el genoma PCV2 (Fig. 2) fue menor en los días 117 y 146 en los cerdos vacunados comparados con los cerdos no vacunados.

No se detectaron otras diferencias significativas en el resto de días del experimento o para el efecto de la dieta de iniciación o de la interacción de ésta y la vacunación.

### **Valores ELISA y resultados del genoma para MHYO**

Los resultados ELISA para los valores de inhibición de MHYO y el porcentaje de muestras seropositivas están reflejados en la Fig. 3. Los resultados de inhibición de MHYO >65 fueron interpretados como positivos. No hubo efectos significativos en la dieta de iniciación o en la interacción entre la dieta de iniciación y la vacunación en los valores de inhibición de MYHO o en el porcentaje de muestras seropositivas en ninguno de los periodos del experimento. En cerdos vacunados, se mostró un mayor valor de inhibición MHYO y un mayor porcentaje de muestras seropositivas en los días 35, 63 y 78 comparado con cerdos no vacunados.

No hubo efectos significativos de la dieta de iniciación, vacunación, o la interacción de ambas en los análisis de PCR con muestras nasales para el genoma de MHYO en ningún periodo de tiempo del experimento (Fig. 4). Las muestras nasales no fueron tomadas en los días 0 a 35 del estudio.

### **Discusión**

El destete de los cerdos es un periodo asociado a múltiples factores de estrés que contribuyen a una reducción del crecimiento, del consumo de alimento, y de la eficacia alimenticia, y un aumento de la morbilidad y la mortalidad [18]. La reducción del consumo de alimento post-destete compromete la función de la barrera intestinal [19]. El estrés del destete induce a la disfunción de la barrera intestinal, que está asociada al aumento de la permeabilidad e inflamación, que a su vez, puede impactar en la función presente y futura de la mucosa intestinal [20-22].

Las vacunas son útiles para ayudar a los cerdos a desarrollar resistencias frente a la exposición a los patógenos que se encuentran a lo largo de su vida. Sin embargo, ciertas vacunas pueden estimular una respuesta inmune que termina en una reducción del consumo de alimento y del crecimiento del animal [12]. Cuando este tipo de vacuna se da en el periodo de destete, éste estrés añadido puede exacerbar más

adelante la reducción del consumo de alimento, que ya estaba comprometido por el estrés propio del destete.

El plasma seco por atomización tiene un importante rol en las dietas de iniciación como fuente de proteína funcional que provee un soporte en la nutrición de los cerdos y proporciona una mejor transición a los efectos negativos del estrés del destete. Los efectos beneficiosos de las dietas de iniciación con plasma seco por atomización en el crecimiento, consumo de alimento, y salud en el cerdo post-destete son bien conocidos [1, 2]. Las disfunciones de la barrera intestinal asociadas al estrés post-destete se redujeron en cerdos que fueron provistos de dietas de iniciación con un 5% de SDPP durante los 14 días después del destete, comparado con dietas que contenían 0 y 2,5% SDPP, se observó que las dietas suplementadas con 5% SDPP ayudan a mantener la función de la barrera intestinal [23]. Por lo tanto, en el presente estudio se usó un 6% SDPP en la dieta de iniciación con la intención de asegurar que una adecuada cantidad de SDPP estuviera disponible para ayudar a mantener la función de la barrera durante el periodo crítico del estrés post-destete.

En el presente estudio, el 6% de SDPP en la dieta de iniciación mejoró a corto plazo el crecimiento post-destete, el consumo de alimento y la eficiencia alimenticia, sin importar el estado de vacunación. A pesar de que la vacunación al día 3 post-destete no tuvo efecto significativo en el crecimiento y consumo de alimento, los cerdos vacunados y alimentados con la dieta control tuvieron la ganancia diaria, el consumo de alimento y la relación ganancia-consumo más bajos, sugiriendo así un efecto a corto tiempo moderado de la vacunación en el crecimiento y eficacia alimenticia durante la semana inicial del estudio.

La ventaja del crecimiento temprano para los cerdos alimentados con SDPP durante los primeros 14 después del destete, no se mantuvo hasta el final de la etapa de crianza (día 48), pero para el final del estudio, ambos, cerdos vacunados y cerdos alimentados con dieta de iniciación con SDPP tuvieron un BW más pesado y mayor peso a la canal. Los cerdos alimentados previamente con SDPP en la dieta de iniciación tuvieron una menor mortalidad a día 48 y esta reducción de la mortalidad, se

mantuvo hasta el final del estudio. Aproximadamente el 70% de la mortalidad tuvo lugar entre los días 14 y 48 después de que los cerdos fueran alimentados con la dieta común sin SDPP, y la mayoría de esta mortalidad se asoció a lesiones compatibles con infecciones causadas por *Haemophilus parasuis*, *Streptococcus suis* o *Mycoplasma hyorhinis* u otros patógenos potenciales. Los cerdos vacunados también redujeron su mortalidad del día 48 al 145. Casi todos los casos de mortalidad durante los días 48 a 145 se describieron como infecciones bacterianas crónicas asociadas con mordedura de colas o debido a eutanasia por parálisis del tren posterior.

En estudios pasados se reportó una menor mortalidad asociada a cerdos de crianza y en crecimiento afectados por PCV2-SD y alimentados con SDPP [3, 4], y esta mortalidad reducida se extendió más allá del periodo de alimentación con dietas con SDPP [3]. Además, se reportaron reducciones en lesiones pulmonares en cerdos alimentados con dietas con SDPP e infectados experimentalmente con virus de influenza porcina [24]. También se ha demostrado que la permeabilidad intestinal de los cerdos previamente alimentados con dietas con 5% de SDPP durante los primeros 14 días post-destete, se redujo cuando fueron desafiados posteriormente con *Salmonella typhimurium* y alimentados con dietas sin SDPP [25]. Colectivamente, estos resultados sugieren que el SDPP en dietas de iniciación tiene un impacto a largo plazo en la resistencia del animal a situaciones de estrés subsecuentes, que a su vez también puede estar relacionado con la reducción de la disfunción de la barrera intestinal provocada por el estrés en el inicio de su vida.

La presión infecciosa por PCV2 (Fig. 2) fue <10% para todos los grupos de tratamientos hasta el día 63; pero para el genoma MHYO (Fig. 4), fue del 18 al 26% positivo para los grupos de tratamientos en el día 63. Con el objetivo de aumentar la presión infecciosa por PCV2, un cerdo por corral fue inoculado con PCV2 el día 63. El genoma del suero de PCV2 progresó lentamente a un porcentaje más alto de muestras positivas (>50%) en el día 117 para cerdos no vacunados; sin embargo, hubo un pequeño aumento en el genoma del suero de PCV2 en cerdos vacunados, sugiriendo así que la vacunación

ayudó a reducir la incidencia subsecuente de viremia por PCV2 (Fig. 2).

La vacunación provocó una fuerte respuesta de los anticuerpos para PCV2 (Fig. 1) y una respuesta modesta de los anticuerpos para MHYO (Fig. 3), éstos resultados son consistentes con otros publicados [26-30]. Un alto porcentaje de cerdos en el destete (día 0) tenían anticuerpos contra PCV2, probablemente debido a la naturaleza ubicua del virus y su extensa sero-prevalencia. Bajo condiciones normales los cerdos adquieren anticuerpos por medio del calostro, que puede durar hasta las 10 semanas de edad. Por lo tanto, los valores de anticuerpos observados para PCV2 en el destete, eran consecuencia de la inmunidad derivada de la madre.

Múltiples factores pueden afectar la seroconversión de MHYO bajo condiciones de campo, tales como una variable proporción de animales infectados, un retraso en el tiempo para obtener una respuesta inmune, o una pobre correlación de la seroconversión con la protección, que conlleva a que no haya ninguna diferencia en la seroconversión entre cerdos vacunados y no vacunados [31].

La vacunación también redujo la presencia del genoma de PCV2 en el suero después del desafío con PCV2, esto confirma la investigación anterior [32, 33]. Estos resultados serológicos podrían explicar parcialmente la mortalidad reducida en los cerdos vacunados durante los días 48 a 145 del estudio, cuando los cerdos fueron desafiados con PCV2. La dieta de iniciación no tuvo efectos significativos en los resultados de anticuerpos o genoma. Bajo las condiciones de este estudio, la vacunación y la alimentación con SDPP en las dietas de iniciación, resultaron en cerdos con un mayor peso vivo final y de canal; sin embargo, la reducción de la mortalidad se asoció a cerdos alimentados con dieta de iniciación con SDPP.

## Conclusiones

La vacunación desencadenó una respuesta inmune a largo plazo contra PCV2, y una respuesta inmune más débil contra MHYO para los cerdos entrando en etapa de finalización y desafiados con PCV2. El SDPP en dietas de iniciación junto con la vacunación promovieron los mejores efectos beneficiosos a largo plazo en la

supervivencia y el BW final y el peso de la canal. Ambas, la vacunación temprana y una dieta suplementada con SDPP, deberían ser consideradas para reducir los riesgos a largo plazo de la mortalidad y la morbilidad en las siguientes etapas de vida.

## **Métodos**

### **Animales y hospedaje**

Los cerdos ([Large White x Landrace] x Pietrain) destetados en el día  $21 \pm 2$  de edad, fueron seleccionados de una granja convencional de cerdas donde utilizaban un sistema de partos en lotes de tres semanas, y fueron transportados a una granja experimental en IRTA. La granja de cerdas era seropositiva contra PRRSV en el momento en que los cerdos fueron destetados. Los cerdos fueron asignados a 4 grupos de tratamiento (1 VC, 2 VP, 3 SC, 4 SC) en un diseño factorial de tratamientos de  $2 \times 2$  con los efectos de una inyección a día 3 post-destete, con una vacuna combinada (V) de PCV2/MHYO contra solución salina (S) o una dieta de iniciación con 0% (C) contra 6% (P) de SDPP como factores de tratamiento primario. El origen maternal, el sexo, y el peso al destete, fueron usados como factores de bloqueo, de acuerdo con los procedimientos habituales en IRTA. La paridad de las cerdas no se usó directamente como un factor de bloqueo; sin embargo, la paridad se equilibró en los grupos de tratamiento del bloque, dado que fue asociado con el origen maternal como factor de bloqueo. Después de la asignación final, había 13 corrales; seis corrales de machos, seis corrales de hembras y un corral de sexo mixto por grupo de tratamiento. Había siete cerdos por corral, excepto un corral asignado al tratamiento cuatro (SP) con solo seis cerdos para un total de 363 cerdos al inicio del experimento. Los cerdos se mantuvieron en dos salas en las instalaciones de destete durante 48 días, la información del BW por cerdo y de la alimentación por corral se registró en intervalos específicos (Tabla 3). Cada sala tenía dos líneas de corrales con un pasillo central (26 corrales por sala) con suelos de rejilla y divisores de corrales, que permitían el contacto directo de los cerdos entre los corrales. Los cerdos experimentales eran los únicos que habitaban las instalaciones de destete durante el tiempo del estudio. En el día 48, los siete cerdos de los corrales originales en las instalaciones del

destete fueron trasladados como un grupo intacto, a un corral aislado, ubicado en una de las tres diferentes salas en la instalación de crecimiento de la granja experimental, y se mantuvieron ahí hasta el día 83. Las instalaciones de crecimiento también tenían vallas divisorias en los corrales que permitían el contacto directo de los cerdos. Después del día 83, los cerdos fueron transportados de nuevo, ésta vez a una granja comercial hasta el día 159 post-destete antes de ser transportados a un matadero comercial. La granja comercial no tuvo otros cerdos localizados en la instalación de finalización durante este tiempo; sin embargo fue necesario distribuir los cerdos dentro del grupo de tratamiento de 10 a 12 cerdos por corral entre todos los corrales localizados en la misma sala. Los corrales en la finalización comercial tenían divisiones solidas que no permitían el contacto de los cerdos de los diferentes corrales. Del día 48 al 145 solo se registró el peso corporal por cerdo individual en intervalos específicos (Tabla 3). El peso a la canal y la clasificación del porcentaje de carne magra de 292 de los 363 cerdos que iniciaron en el experimento, se registró en el matadero. Los procedimientos experimentales de los animales fueron aprobados por el *Departament de Medi Ambient i Habitatge de la Generalitat de Catalunya*.

### **Dietas experimentales de iniciación**

Dos dietas experimentales y no medicadas fueron proporcionadas durante los primeros 14 días después del destete, se trataba de dietas comerciales de iniciación típicas para cerdos destetados en España. Se incluyó SDPP en un 6% para la dieta prueba (P) y se reemplazó el concentrado de proteína de soja usado en la dieta control (C) por una base equivalente de lisina. Ambas dietas de iniciación fueron formuladas para contener 1,45% total de lisina y reunieron o excedieron los requisitos nutricionales recomendados por IRTA (Tabla 4). Las dietas comerciales no medicadas para la fase de producción, fueron proporcionadas del día 14 al 159 del estudio a todos los cerdos, con excepción de la dieta proporcionada en los días 48 a 58 del estudio, que contenía 200 ppm de amoxicilina, 24 ppm de oxybendazol y 120 ppm de colistina.

### **Vacunas**

Una vacuna combinada de PCV2 y MHYO se utilizó al mezclar dos vacunas Ingelvac-Cricoflex™ e Ingelvac-Mycoflex™ (Combo-Flex) preparadas 1:1 de acuerdo a las recomendaciones del fabricante (Boehringer Ingelheim Vetmedica GmbH, Ingelheim am Rhein, Alemania). La mezcla de vacunas se aplicó con una sola inyección (2 ml) vía intramuscular en el cuello en el día 3 post-destete. Estas vacunas fueron seleccionadas como productos comúnmente usados bajo condiciones comerciales en EUA y Europa. Los cerdos no vacunados fueron inyectados con 2 ml de solución salina en el día 3 post-destete.

### **Inoculación de PCV2**

Debido a la baja presión infecciosa de PCV2 en el día 63 post-destete (12 semanas de edad), un cerdo por corral fue desafiado con una cepa de campo (SP-10-7-54-13) de virus PCV2b (título  $10^{5.24}$ TCID<sub>50</sub>/ml) replicado en células PK-15 libres de pestivirus, *Circovirus Porcino tipo 1*, y *Torque teno sus virus 1 y 2* [34]. El PCV2 se inoculó vía intranasal al aplicar 1 ml del cultivo de virus en cada fosa nasal, usando un dispositivo de atomización para la mucosa nasal (LMA® MAD300 nasal, Teleflex Medical, NC).

### **Muestreo y procedimientos analíticos**

Las muestras sanguíneas y los hisopos nasales fueron tomados de dos cerdos por corral (104 cerdos en total; 28.7% de todos los cerdos del estudio) en intervalos seleccionados a lo largo del estudio (Tabla 3). Los mismos cerdos fueron muestreados a lo largo del experimento para detectar infección o seroconversión. En caso de que un cerdo muriese, otro cerdo del mismo corral era muestreado. Toda la sangre se centrifugó el día del muestreo a 600 g por 15 min a 4°C, y el suero fue analizado para anticuerpos de MHYO y PCV2 usando un bloqueo monoclonal ELISA Oxoid™ Mycoplasma hyopneumoniae (Oxoid LTD, UK) y un indirecto ELISA Ingezim Circo IgG 1.1 PCV.K1 (Ingenasa, España), siguiendo las instrucciones del fabricante. El Oxoid™ ELISA detecta anticuerpos contra la proteína externa 74kD de MHYO y es considerada más sensible y al menos tan específica como otras pruebas [35]. El Oxoid™ ELISA no es tan útil para medir los niveles de anticuerpos (mide el porcentaje de inhibición), pero en nuestro estudio trabajando con cerdos

convencionales que pueden tener reacciones de suero inespecíficas para otras especies de Mycoplasma [36], el kit Oxoid™ ELISA fue seleccionado. Para la prueba Oxoid™ ELISA se consideró positivo un valor >65, mientras que para PCV2, ELISA una ratio S/P >17 fue considerado positivo.

Los hisopos nasales fueron re-suspendidos en 1000µL de solución salina estéril con tampón fosfato (PBS por sus siglas en inglés) y vigorosamente centrifugadas, y 200µL de la suspensión fueron usados para extracción de ADN MHYO. El ADN se extrajo de las suspensiones del suero y de los hisopos nasales usando BioSprint 96 DNA Blood Kit (Quiagen Hilden, Alemania) basado en un sistema de extracción de gota magnético automatizado. Para evaluar el potencial de contaminación durante el procedimiento de extracción, un control negativo se incluyó usando PBS como un sustrato de extracción. Las muestras de suero se analizaron para determinar la presencia de genoma PCV2, por medio de un PCR cuantitativo de tiempo real (qrt-PCR) como previamente se ha descrito [37]. Las concentraciones virales fueron expresadas como números de copias de PCV2 ADN por ml de suero, como se describió previamente [38]. PCR anidado (nPCR por sus siglas en inglés) para MHYO se probaron por medio de una técnica previamente descrita [31, 39].

### **Análisis Estadístico**

El corral fue utilizado como unidad experimental cuando se analizó el efecto del bloqueo de peso y del grupo de tratamiento. Las comparaciones de tratamientos ortogonales para los principales efectos de la vacunación (grupos de tratamiento 1 VC + 2 VP vs. grupos de tratamiento 3 SC + 4 SP), dieta de iniciación (2 VP + 4 SP vs. 1 VC + 3 SC), y la interacción entre vacunación y dieta de iniciación (1 VC + 4 SP vs. 2 VP + 3 SC), junto con la covarianza del BW inicial, se incluyeron en el análisis del modelo de varianza (SAS 9.2, SAS Inst. Inc., Cary, NC). El BW individual, la tasa de mortalidad en varios intervalos desde el destete hasta la finalización y la información de la canal por cerdo se analizaron por grupos de tratamientos, sexo e interacción del tratamiento y sexo, junto con la covarianza del BW inicial y las comparaciones de tratamientos ortogonales previamente descritas. La información serológica y de los

hisopos nasales se analizaron del mismo modo que el peso vivo individual y la información a la canal. Los resultados fueron considerados significativos a  $P < 0,05$ .

#### Conflicto de intereses

Joan P y Joaquim S declaran que no tienen conflictos de intereses. Javier P, Carmen R, Joy C y Joe C son empleados de APC Inc., empresa que produce y comercializa plasma atomizado.

Contribución de los autores: Joan P, Javier P y JS diseñaron y dirigieron el estudio, co-escribieron el artículo. CR, Joy C y Joe C realizaron el análisis estadístico y co-escribieron el artículo. Todos los autores contribuyeron en la revisión, lectura y aprobación del manuscrito final.

#### Agradecimientos

Los autores agradecen a los gerentes de la granja comercial por alojar los animales durante la fase de finalización y la colaboración del matadero por su ayuda en la recogida de la información de la canal de los cerdos sacrificados.

#### Información de los autores

<sup>1</sup>IRTA, Centre de Recerca en Sanitat Animal (CReSA, IRTA-UAB), Campus de la Universitat Autònoma de Barcelona, 08193 Bellaterra, Barcelona, Spain. <sup>2</sup>UAB, Centre de Recerca en Sanitat Animal (CReSA, IRTA-UAB), Campus de la Universitat Autònoma de Barcelona, 08193 Bellaterra, Barcelona, Spain. <sup>3</sup>Departament de Sanitat i Anatomia Animals, Universitat Autònoma de Barcelona (UAB), 08193 Bellaterra, Barcelona, Spain. <sup>4</sup>APC EUROPE, S.A. Avda, Sant Julià 246-258, Pol. Ind. El Congost, E-08403 Granollers, Spain. <sup>5</sup>APC Inc., 2425 SE Oak Tree Court, Ankeny, IA 50021, USA.

Recibido: 30 Octubre 2015. Aceptado: 20 Enero 2016

#### Referencias

1. Coffey RD, Cromwell GL. Use of spray-dried animal plasma in diets for weanling pigs. *Pig News & Information*. 2001;22:39–48.
2. Torrallardona D. Spray dried animal plasma as an alternative to antibiotics in weanling pigs – a review. *Asian-Aust J Anim Sci*. 2010;23:131–48.

3. Messier S, Gagne-Fortin C, Crenshaw J. Dietary spray-dried porcine plasma reduces mortality attributed to porcine circovirus associated disease syndrome. *Orlando: Proc AASV*; 2007. p. 147–50.

4. Morés N, Ciacci-Zanella JR, Amara AL, Cordebella A, Lima GJMM, Miele M, et al. Spray dried porcine plasma in nursery and grower feed reduces the severity of Porcine Circovirus associated diseases. *Proc Allen D Lemman Swine Conf Recent Res Rep St Paul, MN*. 2007;34 Suppl:3.

5. Segalés J, Allan GM, Domingo M. Porcine circovirus diseases. *Animal Health Res Rev*. 2005;6:119–42.

6. Thacker EL. Mycoplasma disease. In: Straw B, Zimmerman J, D'Allaire S, Taylor DJ, editors. *Diseases of Swine*. 9th ed. Ames: Blackwell Publishing; 2006. p. 701–17.

7. Opriessnig T, Thacker EL, Yu S, Fenaux M, Meng XJ. Experimental reproduction of postweaning multisystemic wasting syndrome in pigs by dual infection with *Mycoplasma hyopneumoniae* and porcine circovirus type 2. *Vet Pat*. 2004;41:624–40.

8. Zhang H, Lunney JK, Baker RB, Opriessnig T. Cytokine and chemokine mRNA expression profiles in tracheobronchial lymph nodes from pigs singularly infected or coinfecting with porcine circovirus type 2 (PCV2) and *Mycoplasma hyopneumoniae* (MHYO). *Vet Immunol Immunopathol*. 2011; 140:152–8.

9. Opriessnig T, Madson DM, Schalk S, Brockmeier S, Shen HG. Porcine circovirus type 2 (PCV2) vaccination is effective in reducing disease and PCV2 shedding in semen of boars concurrently infected with PCV2 and *Mycoplasma hyopneumoniae*. *Theriogenology*. 2011;76:351–60.

10. Sibila M, Fort M, Nofrarías M, Pérez de Rozas A, Galindo-Cardiel I, Mateu E, et al. Simultaneous porcine circovirus type 2 and *Mycoplasma hyopneumoniae* coinfection does not potentiate disease in conventional pigs. *J Comp Pathol*. 2012;147(2-3):285–95.

11. Maes D, Segalés J, Meyns T, Sibila M, Pieters M, Haesebrouck F. Control of *Mycoplasma hyopneumoniae* infections in pigs. *Vet Microbiol*. 2008;126(4): 297–309.

12. Segalés J. Best practice and future challenges for vaccination against porcine circovirus type 2. *Expert Rev Vaccines*. 2015;14(3):473–87.

13. Payne B, Cline G. The effect of commercial combination PCV2/*Mycoplasma hyopneumoniae* vaccination products on wean to finish performance. *Proc Allen D Lemman Swine Conf*. St Paul, MN. 2012;39:203. Retrieved from the University of Minnesota Digital Conservancy, 2012; <http://purl.umn.edu/151607>

14. Kane EM, Potter ML, Bergstrom JR, Dritz SS, Tokach MD, DeRouchey JM, et al. Effects of diet source and timing of porcine circovirus type 2 (PCV2) and *Mycoplasma hyopneumoniae* vaccines on post-weaning nursery pig performance. *J Anim Sci*. 2009;87(E-Suppl 3):7.

15. Myers AJ, Bergstrom JR, Tokach MD, Dritz SS, Goodband RD, DeRouche JM, et al. Effects of Liquitein on weanling pigs administered a porcine circovirus type 2 and *Mycoplasma hyopneumoniae* vaccine strategy. *Kansas State University Swine Day*. 2011;62-69. <http://hdl.handle.net/2097/13480>.
16. Potter ML, Kane EM, Bergstrom JR, Dritz SS, Tokach MD, DeRouche JM, et al. Effects of diet source and vaccination for porcine circovirus type 2 and *Mycoplasma hyopneumoniae* on nursery pig performance. *J Anim Sci*. 2012;90:4063-71.
17. Lallès JP, Bosi P, Janczyk P, Koopmans SJ, Torrallardona D. Impact of bioactive substances on the gastrointestinal tract and performance of weaned piglets: a review. *Animal*. 2009;1:1-19.
18. Campbell JM, Crenshaw JD, Polo J. The biological stress of early weaned piglets. *J Anim Sci Biotech*. 2013;4:19-22.
19. Spreeuwenberg MAM, Verdonk JMAJ, Gaskins HR, Verstegen MWA. Small intestine epithelial barrier function is compromised in pigs with low feed intake at weaning. *J Nutr*. 2001;131:1520-7.
20. Smith F, Clark JE, Overman BL, Tozel CC, Huang JH, Rivier JEF, et al. Early weaning stress impairs development of mucosal barrier function in the porcine intestine. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*. 2010;298:G352-63.
21. McKay DM, Baird AW. Cytokine regulation of epithelial permeability and ion transport. *Gut*. 1999;44:282-9.
22. Píe S, Lallès JP, Blazy F, Laffite J, Sève B, Oswald IP. Weaning is associated with an upregulation of expression of inflammatory cytokines in the intestine of piglets. *J Nutr*. 2004;134:641-7.
23. Peace RM, Campbell J, Polo J, Crenshaw J, Russell L, Moeser A. Spray-dried porcine plasma influences intestinal barrier function, inflammation and diarrhea in weaned pigs. *J Nutr*. 2011;141:1312-7.
24. Campbell J, Crenshaw J, Polo J. Impact of feeding spray-dried plasma to pigs challenged with swine influenza virus. *Barcelona: Proc Intl Symp Emerging and Re-emerging Pig Diseases*; 2011. p. 269.
25. Boyer PE, D'Costa S, Edwards LL, Milloway M, Susick E, Borst LB, et al. 2015. Early-life dietary spray-dried plasma influences immunological and intestinal injury response to later-life *Salmonella typhimurium* challenge. *Brit J Nutr*. 2015. doi:10.1017/S00071145140422X.
26. Fachinger V, Bischoff R, Jedidia SB, Saalmüller A, Elbers K. The effect of vaccination against porcine circovirus type 2 in pigs suffering from porcine respiratory disease complex. *Vaccine*. 2008;26(11):1488-99.
27. Kixmüller M, Ritzmann M, Eddicks M, Saalmüller A, Elbers K, Fachinger V. Reduction of PMWS-associated clinical signs and co-infections by vaccination against PCV2. *Vaccine*. 2008;26(27-28):3443-51.
28. Fraile L, Grau-Roma L, Sarosola P, Sinovas N, Nofrarias M, López-Jimenez R, et al. Inactivated PCV2 one shot vaccine applied in 3-week-old piglets: Improvement of production parameters and interaction with maternally derived immunity. *Vaccine*. 2012;30(11):1986-92.
29. Martelli P, Saleri R, Cavalli V, De Angelis E, Ferrari L, Benetti M, et al. Systemic and local immune response in pigs intradermally and intramuscularly injected with inactivated *Mycoplasma hyopneumoniae* vaccines. *Vet Microbiol*. 2014;168(24):357-64.
30. Huang Y, Ladinig A, Ashley C, Haines DM, Harding J. Innate and adaptive responses of snatch-farrowed porcine-colostrum-deprived pigs to *Mycoplasma hyopneumoniae* vaccination. *BMC Vet Res*. 2014;10:219.
31. Sibila M, Calsamiglia M, Vidal D, Badiella LI, Aldaz A, Jensen JC. Dynamics of *Mycoplasma hyopneumoniae* infection in 12 farms with different production systems. *Can J Vet Res*. 2004;68(1):12-8.
32. Fort M, Sibila M, Allepuz A, Mateau E, Roerink F, Segalés J. Porcine circovirus type 2 (PCV2) vaccination of conventional pigs prevents viremia against PCV2 isolates of different genotypes and geographical origins. *Vaccine*. 2008;26(8):1063-71.
33. Opriessnig T, Gerber PF, Xiao C-T, Halbur PG, Matzinger SR, Xiang-Jin M. Commercial PCV2a-based vaccines are effective in protecting naturally PCV2b-infected finisher pigs against experimental challenge with a 2012 mutant PCV2. *Vaccine*. 2014;32(34):4342-8.
34. Fort M, Sibila M, Nofrarias M, Perez-Martin E, Olvera A, Mateu E, et al. Porcine circovirus type 2 (PCV2) Cap and Rep proteins are involved in the development of cell-mediated immunity upon PCV2 infection. *Vet Immunol Immunopathol*. 2010;137:226-34.
35. Ameri-Mahabadi M, Zhou E-M, Hsu WH. Comparison of two swine *Mycoplasma hyopneumoniae* enzyme-linked immunosorbent assays for detection of antibodies from vaccinated pigs and field serum samples. *J Vet Diagn Invest*. 2005;17:61-4.
36. Feld NC, Qvist P, Ahrens P, Friis NF, Meyling A. A monoclonal blocking ELISA detecting serum antibodies to *Mycoplasma hyopneumoniae*. *Vet Microbiol*. 1992;30:35-46.
37. Olvera A, Sibila M, Calsamiglia M, Segalés J, Domingo M. Comparison of porcine circovirus type 2 load in serum quantified by a real time PCR in postweaning multisystemic wasting syndrome and porcine dermatitis and nephropathy syndrome naturally affected pigs. *J Virol Methods*. 2004;117(1):75-80.
38. Grau-Roma L, Hjulsgager CK, Sibila M, Kristensen CS, López-Soria S, Enøe C, et al. Infection, excretion and seroconversion dynamics of porcine circovirus type 2 (PCV2) in pigs from post-weaning multisystemic wasting syndrome (PMWS) affected farms in Spain and Denmark. *Vet Microbiol*. 2009;135(3-4):272-82.
39. Calsamiglia M, Pijoan C, Trigo A. Application of a nested polymerase chain reaction assay to detect *Mycoplasma hyopneumoniae* from nasal swabs. *J*

Swine Health Prod. 1999;7:263–8.

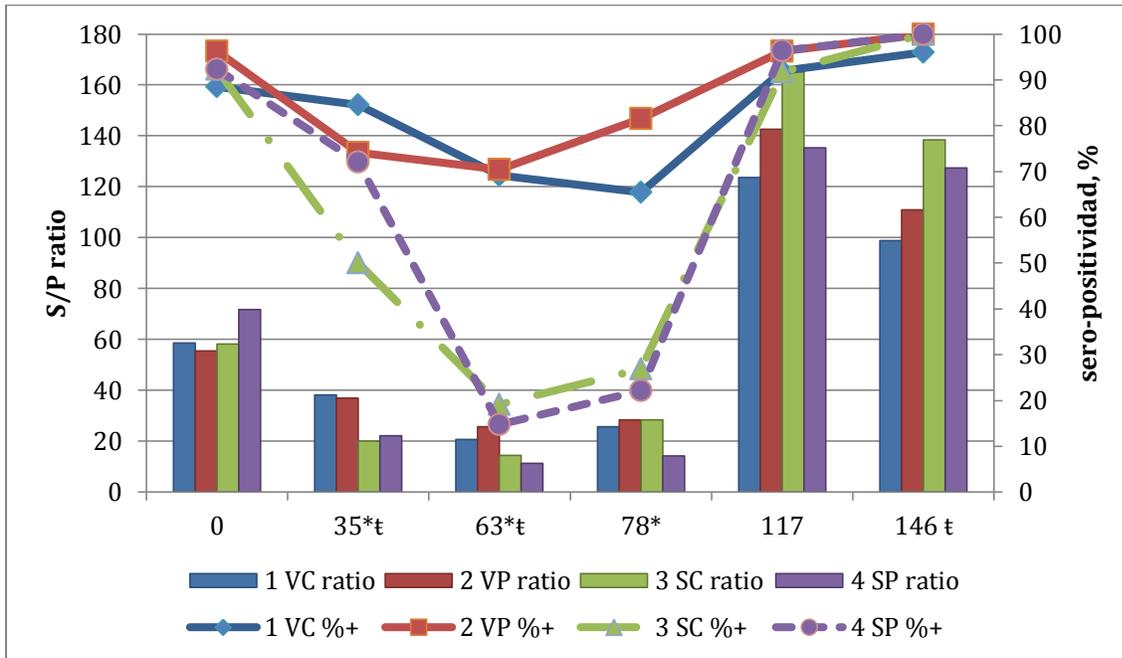
dried porcine plasma in starter diets associated with conventional vaccination program on wean to finish performance. *Porcine Health Management*. Open Access. Doi: 10.1186/s40813-016-0021-6.

Traducción artículo publicado:

Pujols, J., Segalés, J., Polo J., Rodríguez, C., Campbell, J., and Crenshaw, J. 2016. Influence of spray

<http://porcinehealthmanagement.biomedcentral.com/articles/10.1186/s40813-016-0021-6>

Figura 1. PCV2 ELISA resultado por tratamientos y día de experimentación

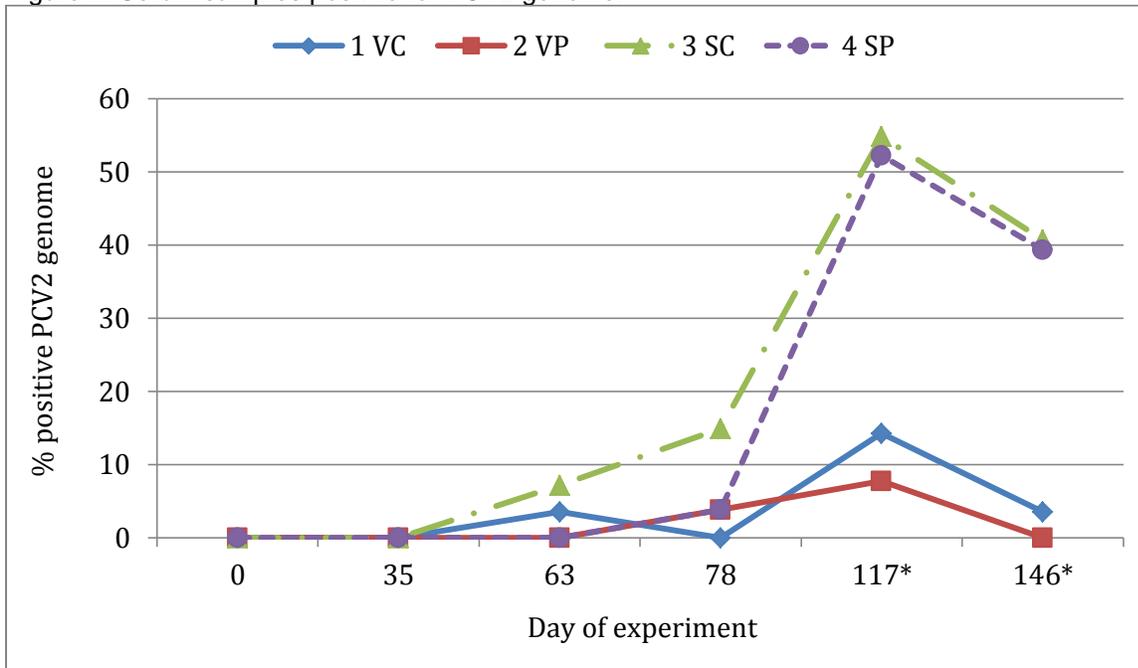


Los valores son medias de mínimos cuadrados del ratio S/P (ratio, barras, escala vertical de la izquierda) y del porcentaje de muestras positivas (%+, líneas, escala vertical de la derecha) del suero frente a PCV2 de los grupos de tratamientos por día de experimentación (26 muestras por tratamiento y día). El ratio S/P > 17 se consideró positivo. Los grupos de tratamientos fueron cerdos vacunados (V) o salinos (S) inyectados a día 3 post-destete y que fueron alimentados con dieta de iniciación con (P) o sin (C) plasma porcino atomizado durante los primeros 14 días tras el destete. One pig per pen was challenged with PCV2 inoculum on d 63 after weaning. Data was analyzed for the effects of sex, treatment group and interaction of treatment group and sex using orthogonal treatment comparisons for the main effects of vaccination (1 VC + 2 VP vs 3 SC + 4 SP), starter diet (1 VC + 3 SC vs 2 VP + 4 SP) and interaction of vaccination and starter diet (1 VC + 4 SP vs 2 VP + 3 SC).

† Main effect of vaccination for day 35, 63 and 146 of the experiment for S/P titer ( $P < 0.05$ ).

\*Main effect of vaccination for day 35, 63 and 78 of the experiment for % positive samples ( $P < 0.05$ ).

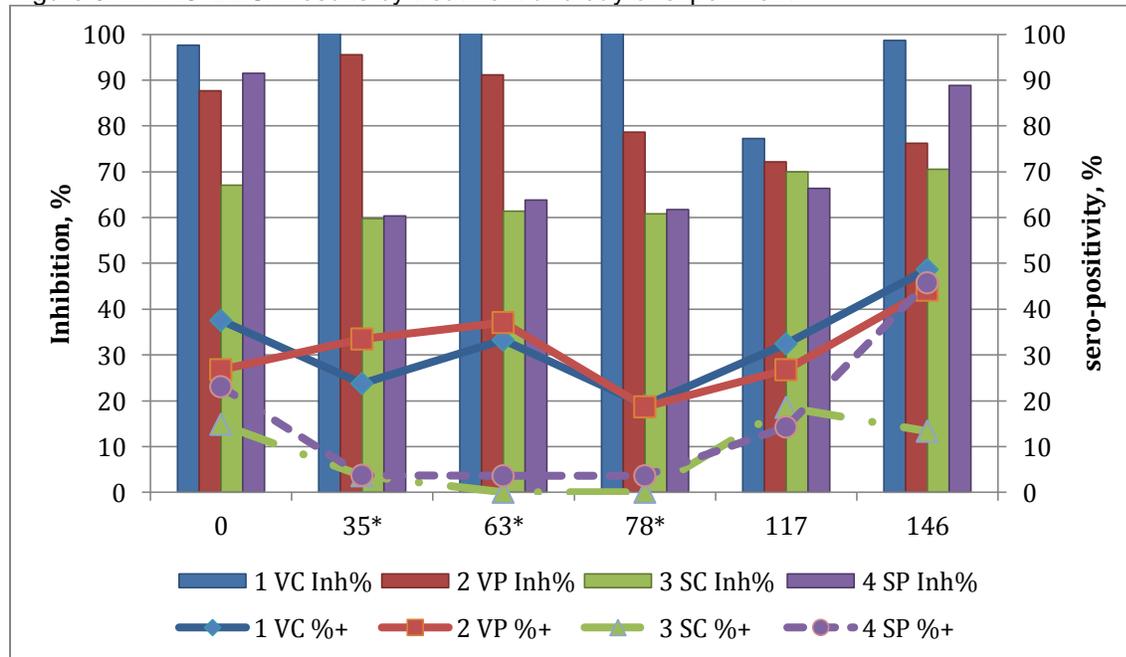
Figure 2. Serum samples positive for PCV2 genome.



Values are least squares means of treatment group by day of experiment for percentage of serum samples positive for PCV2 genome (n=26 samples per treatment by day). Treatment groups were vaccinated (V) or saline (S) injected pigs on d 3 after weaning that were fed starter diets with (P) or without (C) spray-dried porcine plasma for the initial 14 d post-weaning. One pig per pen was challenged with PCV2 inoculum on d 63 after weaning. Data was analyzed for the effects of sex, treatment group and interaction of treatment group and sex using orthogonal treatment comparisons for the main effects of vaccination (1 VC + 2 VP vs 3 SC + 4 SP), starter diet (1 VC + 3 SC vs 2 VP + 4 SP) and interaction of vaccination and starter diet (1 VC + 4 SP vs 2 VP + 3 SC).

\*Main effect of vaccination for day 117 and 146 of the experiment (P<0.05).

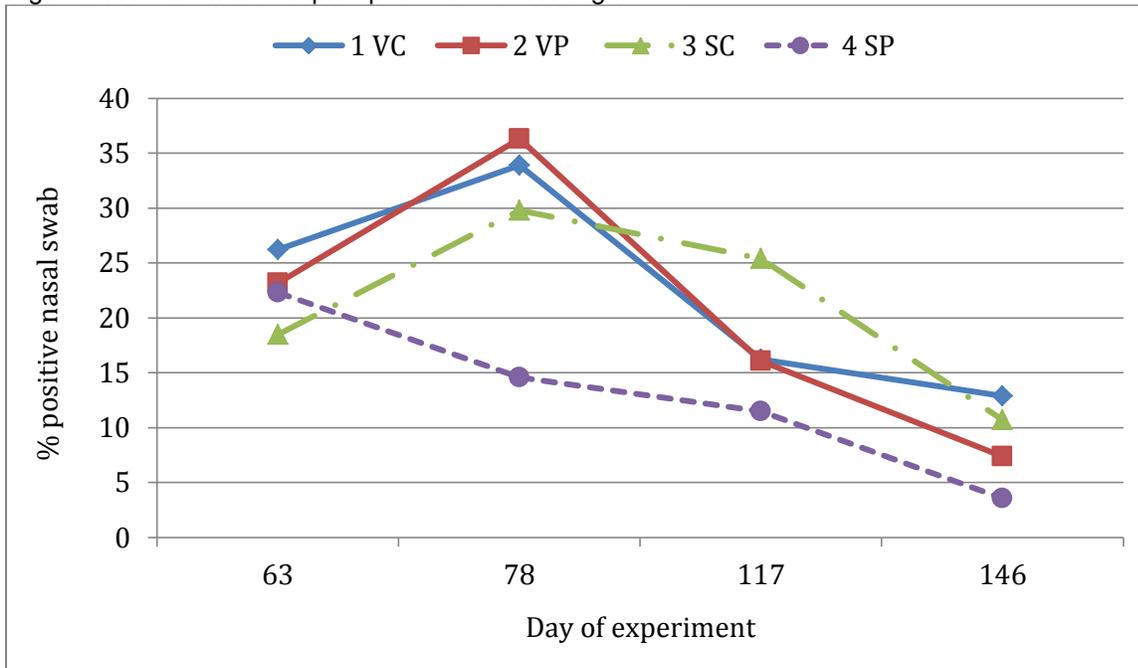
Figure 3. MYHO ELISA results by treatment and day of experiment.



Values are least squares means of treatment group by day of experiment for serum inhibition titer (Inh%, bars, left vertical scale) and percentage positive samples (%+, lines, right vertical scale) against MHYO (26 samples per treatment by day). **Inhibition > 65 considered positive.** Treatment groups were vaccinated (V) or saline (S) injected pigs on d 3 after weaning that were fed starter diets with (P) or without (C) spray-dried porcine plasma for the initial 14 d post-weaning. One pig per pen was challenged with PCV2 inoculum on d 63 after weaning. Data was analyzed for the effects of sex, treatment group and interaction of treatment group and sex using orthogonal treatment comparisons for the main effects of vaccination (1 VC + 2 VP vs 3 SC + 4 SP), starter diet (1 VC + 3 SC vs 2 VP + 4 SP) and interaction of vaccination and starter diet (1 VC + 4 SP vs 2 VP + 3 SC).

\*Main effect of vaccination for day 35, 63, and 78 of the experiment ( $P < 0.05$ ) for both inhibition titer and percentage of positive samples.

Figure 4. Nasal swab samples positive for MHYO genome



Values are least squares means of treatment group by day of experiment for percentage of nasal swab samples positive for MHYO genome (n=26 samples per treatment by day). Treatment groups were vaccinated (V) or saline (S) injected pigs on d 3 after weaning that were fed starter diets with (P) or without (C) spray-dried porcine plasma for the initial 14 d post-weaning. One pig per pen was challenged with PCV2 inoculum on d 63 after weaning. Data was analyzed for the effects of sex, treatment group and interaction of treatment group and sex using orthogonal treatment comparisons for the main effects of vaccination (1 VC + 2 VP vs 3 SC + 4 SP), starter diet (1 VC + 3 SC vs 2 VP + 4 SP) and interaction of vaccination and starter diet (1 VC + 4 SP vs 2 VP + 3 SC).

There were no significant differences detected among treatment groups at any sampling time.

**Table 1. Nursery performance of vaccinated pigs fed starter diet with spray dried plasma<sup>1</sup>**

Variable	Day <sup>2</sup>	Treatment group				SEM	Probability F-test			
		1 VC	2 VP	3 SC	4 SP		Trt	Vac	Diet	VxD
ADG, g	0-7	57.6	105.8	70.0	104.4	6.57	<0.01	0.41	<0.01	0.31
ADFI, g	0-7	83.1	111.6	86.9	107.0	4.77	<0.01	0.94	<0.01	0.38
GF	0-7	0.730	0.941	0.805	0.965	0.063	<0.01	0.34	<0.01	0.64
ADG, g	7-14	176.9	180.9	183.4	189.1	8.47	0.77	0.39	0.57	0.92
ADFI, g	7-14	222.2	245.6	223.9	249.3	9.10	0.08	0.76	0.01	0.91
GF	7-14	0.812	0.742	0.811	0.761	0.029	0.22	0.76	0.04	0.73
ADG, g	0-14	117.3	143.3	126.7	146.8	5.28	<0.01	0.23	<0.01	0.58
ADFI, g	0-14	152.7	178.6	155.4	178.2	5.67	<0.01	0.84	<0.01	0.78
GF	0-14	0.763	0.804	0.812	0.827	0.024	0.27	0.14	0.24	0.57
ADG, g	14-48	440.8	448.4	449.8	433.8	8.95	0.57	0.75	0.64	0.20
ADFI, g	14-48	651.9	656.1	650.6	647.0	13.5	0.97	0.70	0.98	0.78
GF	14-48	0.678	0.684	0.694	0.672	0.009	0.39	0.82	0.37	0.14
ADG, g	0-48	346.4	359.4	355.5	350.1	6.83	0.55	0.99	0.58	0.19
ADFI, g	0-48	506.3	516.8	506.2	510.3	10.5	0.87	0.75	0.48	0.76
GF	0-48	0.687	0.696	0.705	0.688	0.009	0.45	0.59	0.67	0.14

<sup>1</sup> Values are least squares mean of the pen average performance variable analyzed for block and treatment group (Trt) using orthogonal treatment comparisons for the effect of vaccination (Vac), starter diet (Diet) and interaction of vaccination and starter diet (VxD). Initial BW ( $5.83 \pm 0.1$  kg) was included as a covariant. Starter diets were fed for the initial 14 d after weaning, and then all pigs were fed common diets from d 14 to 48. There were 13 pens per treatment group. Treatment groups were a single injection at d 3 post-weaning with PCV2/MHYO vaccine (V) or saline (S) and starter diet with 0% (C) or 6% spray dried porcine plasma (P).

<sup>2</sup> Day or period of experiment.

**Table 2. Mortality, BW and carcass data of vaccinated pigs fed starter diets with spray dried plasma<sup>1</sup>**

Variable	Day <sup>2</sup>	Treatment Group				SEM	Probability F-test			
		1 VC	2 VP	3 SC	4 SP		Trt	Vac	Diet	VxD
Pigs, n	0	91	91	91	90	--	--	--	--	--
Mortality, %	0-14	1.09	0.00	0.00	0.00	0.55	0.41	0.32	0.32	0.32
	14-48	8.89	4.37	5.53	1.11	2.26	0.11	0.14	0.05	0.98
	0-48	9.95	4.37	5.53	1.11	2.32	0.06	0.10	0.03	0.80
	48-145	1.32	0.00	4.77	3.36	1.66	0.17	0.03	0.40	0.98
	0-145	11.06	4.37	9.95	4.44	2.74	0.17	0.85	0.03	0.82
BW, kg	0	5.84	5.83	5.82	5.84	0.10	0.99	0.96	0.97	0.89
	7	6.24	6.58	6.32	6.57	0.06	<0.01	0.52	<0.01	0.44
	14	7.49	7.84	7.60	7.90	0.09	<0.01	0.36	<0.01	0.73
	21	9.17	9.62	9.53	9.66	0.14	0.06	0.15	0.04	0.27
	35	15.06	15.64	15.39	15.55	0.25	0.38	0.62	0.22	0.57
	48	22.47	23.14	22.90	22.70	0.44	0.63	0.98	0.53	0.24
	63	33.32	34.56	34.90	34.09	0.54	0.46	0.84	0.22	0.29
	83	49.64	50.48	49.46	49.92	0.73	0.76	0.60	0.36	0.79
	114	73.40	75.20	72.22	72.14	1.12	0.16	0.06	0.44	0.39
	145	100.7	102.3	98.67	100.8	1.20	0.18	0.13	0.11	0.83
Carcass, n <sup>3</sup>	159	70	74	72	76	--	--	--	--	--
BW, kg <sup>4</sup>	145	101.7	104.2	98.60	101.8	1.14	<0.01	0.01	0.01	0.77
Carcass, kg	159	86.43	88.70	84.05	86.90	0.94	<0.01	0.03	<0.01	0.75
Lean, %	159	57.97	57.38	58.00	57.48	0.36	0.47	0.85	0.11	0.92

<sup>1</sup> Values are least squares mean of percentage mortality, individual pig body weight (BW) and carcass variable by day or period of experiment analyzed for the effects of sex (S), treatment group (Trt), and interaction of Trt and sex (TxS), using orthogonal treatment comparisons for the main effect of vaccination (Vac), starter diet (Diet) and interaction of vaccination and starter diet (VxD). Initial BW (5.83 ± 0.1 kg) was included as a covariant. Starter diets were fed for the initial 14 d after weaning, then all pigs were fed common diets from d 14 to 145. Treatment factors were a single injection at d 3 post-weaning with PCV2/MHYO vaccine (V) or saline (S) and starter diet with 0% (C) or 6% spray dried porcine plasma (P).

<sup>2</sup> Day or period of experiment.

<sup>3</sup> Number of carcasses classified at abattoir differed from number of pigs finished due to culling or lost carcass identification.

<sup>4</sup> Live BW of pigs at d 145 that subsequently had carcasses classified on d 159.

**Table 3. Schedule for data collection, sampling and other experimental events**

Day <sup>1</sup>	Pig age, d	Pig weight	Starter diet	Vaccine <sup>2</sup>	Challenge <sup>3</sup>	Blood sample <sup>4</sup>	Nasal swab <sup>5</sup>
0	21	√	√			√	
3	24		√	√			
7	28	√	√				
14	35	√	√				
21	42	√					
35	56	√				√	
48 <sup>6</sup>	69	√					
63	84	√			√	√	√
78	99					√	√
83 <sup>7</sup>	104	√					
114	135	√					
117	138					√	√
145	166	√					
146 <sup>8</sup>	167					√	√

<sup>1</sup> Day of experiment.

<sup>2</sup> Pigs were injected with either vaccine or saline.

<sup>3</sup> One pig per pen was inoculated intranasally with PCV2 culture.

<sup>4</sup> Blood samples were collected from 2 pigs per pen for ELISA analysis for antibodies against PCV2 and MHYO and PCR for PCV2.

<sup>5</sup> Nasal swab samples were collected from 2 pigs per pen for PCR for MHYO.

<sup>6</sup> All pigs were moved from nursery to grower facility at IRTA on d 48.

<sup>7</sup> All pigs were moved from grower facility at IRTA to a commercial finishing farm d 83.

<sup>8</sup> Carcass data was recorded d 159 for pigs classified at the abattoir.

**Table 4. Ingredient and calculated nutrient composition of starter diets**

Ingredient, %	Control	Test
Barley	49.34	49.34
Wheat	1.58	0.00
Extruded whole soybeans	15.11	15.12
Soybean meal (47% CP)	2.48	6.99
Spray dried porcine plasma <sup>1</sup>	0.00	6.00
Soy protein concentrate	9.50	0.00
Dried sweet whey	13.72	13.72
Animal fat	5.24	6.09
Dicalcium phosphate	1.84	2.09
Calcium carbonate	0.00	0.04
Salt	0.28	0.00
Vitamin-trace mineral premix <sup>2</sup>	0.25	0.25
L-lysine	0.36	0.21
DL-methionine	0.19	0.15
L-threonine	0.11	0.02
Total, %	100.0	100.0
Calculated nutrients		
Dry matter, %	89.97	89.55
Crude protein, %	21.08	21.08
Metabolizable energy, kcal/kg	3425	3425
Lactose, %	10.00	10.00
Ether extract, %	9.56	10.48
Ash, %	6.05	6.57
Calcium, %	0.73	0.80
Phosphorus, %	0.76	0.85
Digestible phosphorus, %	0.42	0.55
Sodium, %	0.22	0.34
Chloride, %	0.55	0.53
Lysine, %	1.45	1.45
Methionine, %	0.50	0.44
Methionine + Cysteine, %	0.87	0.89
Threonine, %	0.94	0.94
Tryptophan, %	0.26	0.29

<sup>1</sup> AP820™, APC Europe, Granollers, Spain.

<sup>2</sup> Provided the following per kg of diet: vitamin A (E-672) 10000 UI; vitamin D<sub>3</sub> (E-671) 2000 UI; vitamin E (alpha-tocopherol) 25 mg; vitamin B<sub>1</sub> 1.5 mg; vitamin B<sub>2</sub> 3.5 mg; vitamin B<sub>6</sub> 2.4 mg; vitamin B<sub>12</sub> 20 µg; vitamin K<sub>3</sub> 1.5 mg; calcium panthotenate 14 mg; nicotinic acid 20 mg; folic acid 0.5 mg; biotin 50 µg; Fe (E-1) (from FeSO<sub>4</sub>·H<sub>2</sub>O) 120 mg; I (E-2) (from Ca(I<sub>2</sub>O<sub>3</sub>)<sub>2</sub>) 0.75 mg; Co (E-3) (from 2CoCO<sub>3</sub>·3Co(OH)<sub>2</sub>·H<sub>2</sub>O) 0.6 mg; Cu (E-4) (from CuSO<sub>4</sub>·5H<sub>2</sub>O) 150 mg; Mn (E-5) (from MnO) 60 mg; Zn (E-6) (from ZnO) 110 mg; Se (E-8) (from Na<sub>2</sub>SeO<sub>3</sub>) 0.37 mg.