

¿Cómo afrontar cepas recurrentes y muy patógenas de PRRS?

Laura Batista

*Directora de Batista & Asociados
México/Canadá*



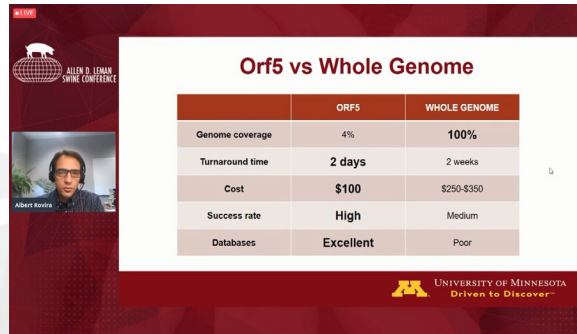
Agenda

1. ¿Cepas hipervirulentas, sorpresa?
2. Algunas definiciones...
3. ¿Le estamos poniendo la mesa al vPRRS?
4. ¿Estoy haciendo lo que debo o solo lo que puedo?
 - a) Diagnóstico
 - b) Bioseguridad
 - c) Inmunidad de población
 - d) Capacitación de personal
5. Conclusión

¿Son una sorpresa estás cepas hipervirulentas?

- En los Estados Unidos de América (EE.UU.), el primer informe de una cepa virulenta de PRRSV-2 fue en 1995 cuando se aisló el PRRSV VR-2385 en Iowa con aborto tardío en granjas de cerdas y alta mortalidad de lechones en parideras y destete.
- Otras cepas virulentas de PRRSV-2 surgieron en los EE. UU. entre 2013-2014. Cepas como las variantes MN184, SDSU73, JA142, 17198-6, NADC30_y 1-7-4 L1A, que y se asociaron con altas pérdidas de producción.
- En Asia, el ejemplo más notable es la aparición del HP-PRRSV (los aislados representativos incluyen JXA1, TJ y HuN4; linaje 8) en China alrededor de 2006 con su posterior propagación a otros países asiáticos. Después de eso, además del HP-PRRSV, han surgido otras variantes del PRRSV-2, como el linaje 3 QYYZ-like, el linaje 1 NADC30-like, el linaje 1-NADC34-like, y numerosas cepas recombinantes, en China y otros países asiáticos.

NGS = Secuenciación de Nueva Generación



Orf5 vs Whole Genome

	ORF5	WHOLE GENOME
Genome coverage	4%	100%
Turnaround time	2 days	2 weeks
Cost	\$100	\$250-\$350
Success rate	High	Medium
Databases	Excellent	Poor

Albert Rovira
UNIVERSITY OF MINNESOTA
Driven to Discover™

Genetic variability within porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV) is remarkable, said Albert Rovira, DVM, with the Veterinary Diagnostic Laboratory at the University of Minnesota. He believes there are benefits to using whole-genome sequencing (WGS) in large outbreaks, especially when Orf 5 sequencing doesn't fully answer important diagnostic questions.

Traditionally, different strains have been identified and differentiated by sequencing the Orf 5 gene of the virus. The method has pros and cons, however, and WGS might provide a more in-depth analysis.

"This sequencing method is currently available at diagnostic laboratories with high precision, good reproducibility and quick turnaround time," Rovira said during a recent presentation.¹ In addition, Orf 5 sequencing is relatively low cost, and extensive databases are available for sequence comparisons, he explained.

"However, the Orf 5 gene is only 600 nucleotides long, thus representing only 4% of the genome," Rovira noted. "In some cases, it may be useful to sequence the whole genome of the virus."

WGS has benefits as well as disadvantages. On the plus side, it provides the ability to analyze virus changes on parts of the genome other than the Orf 5. On the negative side, it is more expensive, less reliable, less sensitive and slower than Orf 5 sequencing, Rovira said.

"All these limitations are being addressed by new advances in next-generation sequencing technology and bioinformatics pipelines," he said. "WGS is quickly becoming more reliable, easier to interpret, faster and less costly."

¹ Rovira A. What can we learn from a PRRS whole genome sequence? Veterinary Diagnostic Laboratory, University of Minnesota, St. Paul, Minn. Presented at Am Assoc Swine Vet annual meeting, March 2021.

En Estados Unidos

Porcine reproductive and respiratory syndrome (PRRS)

Notifiable diseases

Disease

New PRRS 1-4-4 L1C variant presents dramatic symptoms, quick spread

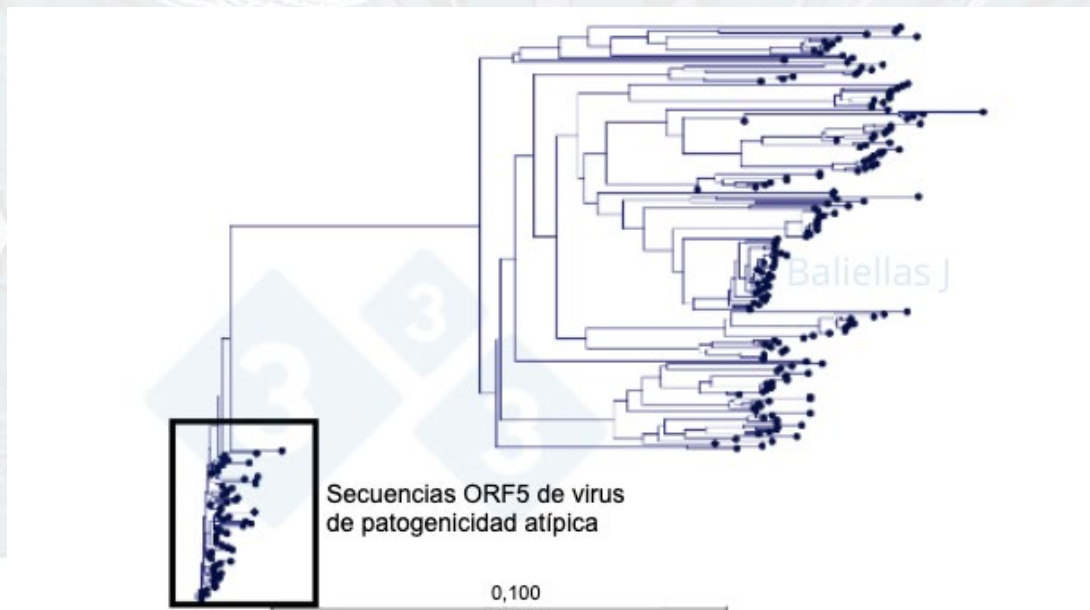
Nearly everyone in pork production is familiar with the clinical signs of porcine reproductive and respiratory syndrome (PRRS), but not everyone has experienced a new variant within the PRRS virus 1-4-4 lineage 1C (PRRSV 1-4-4 L1C). For herds in the upper Midwest that challenge surfaced late in 2020. Reports started with farms finding 10 or so sows off feed, and within a few days the tally would exceed 100 and continue to climb. About that same time, aborted litters would reach record numbers, and sow mortality rates spiked.

📅 31 March 2021 ⌚ 8 minute read 👤 By: Pig Health Today

🌐 North America

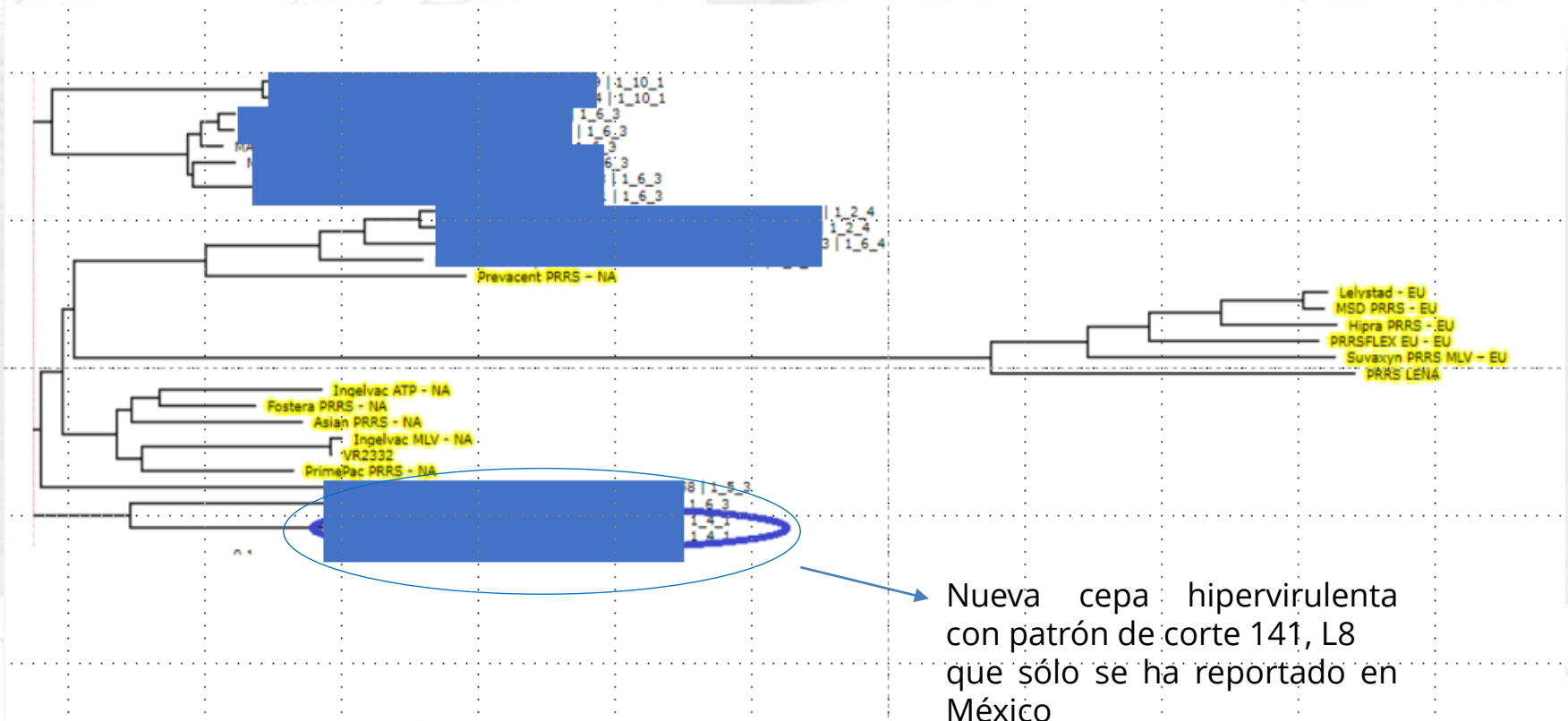
[Nw PRRS 1-4-4 L1C variant presents dramatic symptoms, quick spread | The Pig Site](#)

En España: La Rosalía



cortesía de Baliellas, J. 2023

En México...



¿ Le estamos poniendo la mesa al vPRRS?

Variabilidad genética: supone una perpetua expansión que facilita la aparición de nuevas cepas, ocurre como consecuencia de la replicación viral y permite que el virus se adapte al medio ambiente.

Existen tres tipos en el vPRRS:

1. **Mutación** en el genoma del VPRRS son el resultado de las características de su RNA-polimerasa.
2. **Recombinación** es el intercambio de material genético entre cepas, que generalmente se produce durante el proceso de replicación.
3. *Transferencia horizontal de genes*

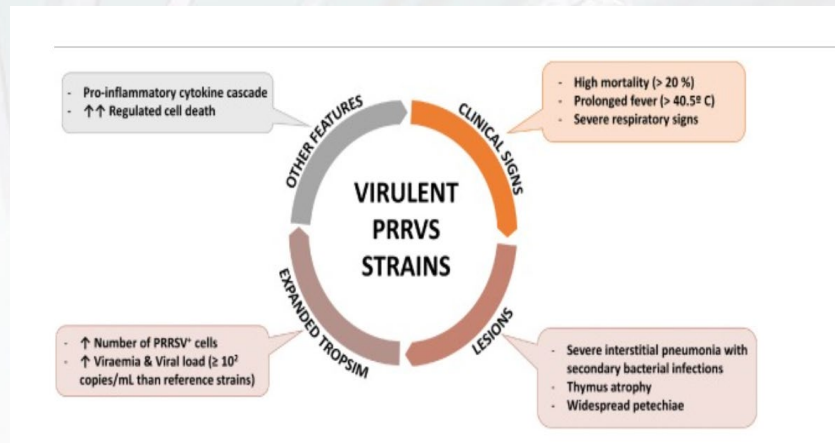


PRRS: definiciones importantes

PATOGENICIDAD es un término cualitativo que describe la capacidad de un patógeno para causar enfermedad (i.e. problemas reproductivos en cerdas y enfermedades respiratorias en cerdos en crecimiento).

VIRULENCIA es un término cuantitativo que define la gravedad o intensidad de la enfermedad.

RECURRENTE término que indica que vuelve a ocurrir o a aparecer, especialmente después de un intervalo después del brote inicial.



¿Qué significa todo esto en el campo?

1. En el pie de cría inapetencia y fiebre de $\geq 41^{\circ}\text{C}$.
2. Tormentas de abortos tardíos $\geq 20\%$.
3. Mortalidad en hembras $\geq 10\%$.
4. Alto porcentaje de momias y nacidos muertos $\geq 30\%$.
5. Alto porcentaje de mortalidad de lechones en maternidad por diarrea, y/o en crecimiento por complicaciones respiratorias $\geq 30\%$.



6. Neumonía intersticial extensa grave asociada a una cascada inflamatoria de citoquinas (es decir, IL-1, IL-6, TNF- α , IFN- γ) y generalmente acompañada de bronconeumonía supurativa o fibrinosa, lo que indicaría la participación de bacterias oportunistas y secundarias (*APP*, *G. parasuis*, *S. suis*, *M. hyo*, etc..)



7. Lesiones en otros órganos, como atrofia del timo y linfadenopatía, lesiones vasculares en diferentes órganos, como petequias en riñones, ganglios linfáticos y pulmón, y líquido seroso en cavidad torácica.

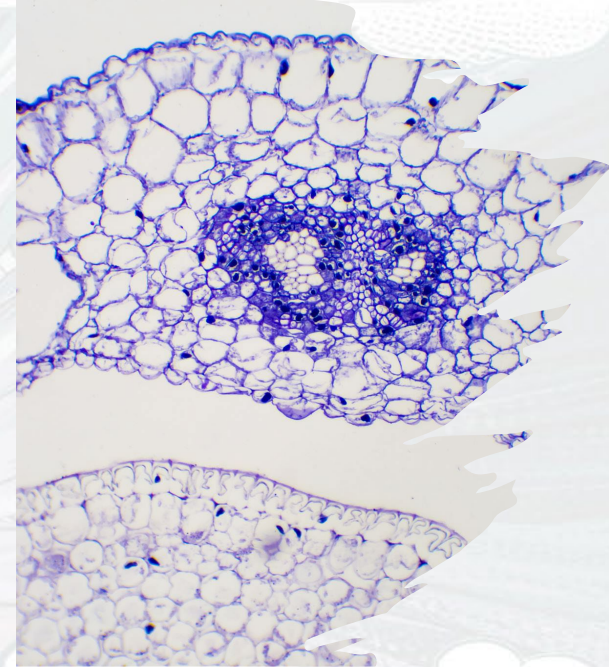
8. Algunas de estas cepas pueden replicarse mejor en el sistema nervioso central que otros aislados, lo que permite que el virus induzca signos clínicos neurológicos e infección cerebral.
(<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC10674456/>)



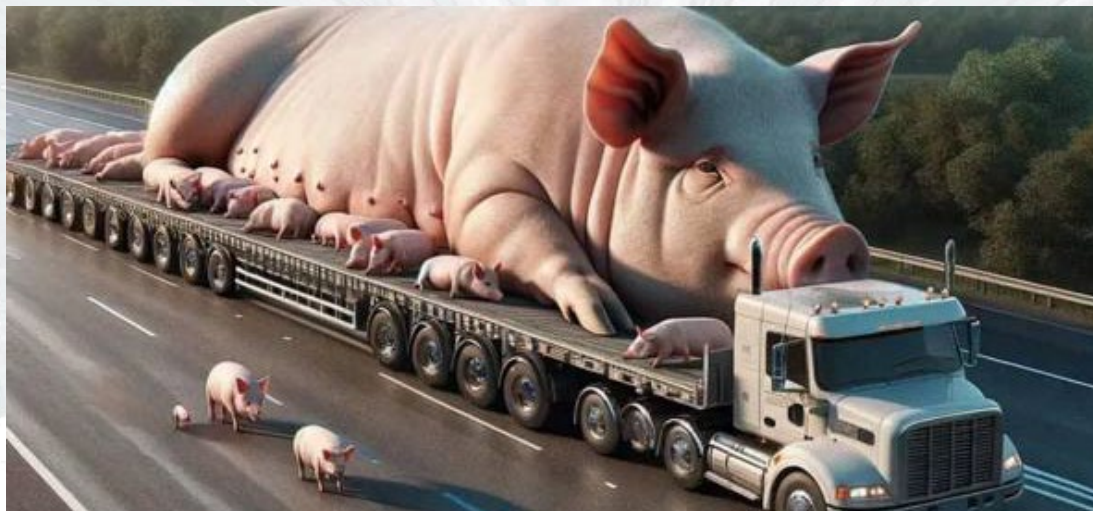
9. Tropismo más alto y expandido. Un mayor número de células positivas específicas de antígeno en los pulmones y otros tejidos, principalmente en tejidos linfoides, como el timo, los ganglios linfáticos y las amígdalas.

10. Mayor capacidad para inducir la muerte celular regulada en pulmones y tejidos linfoides.

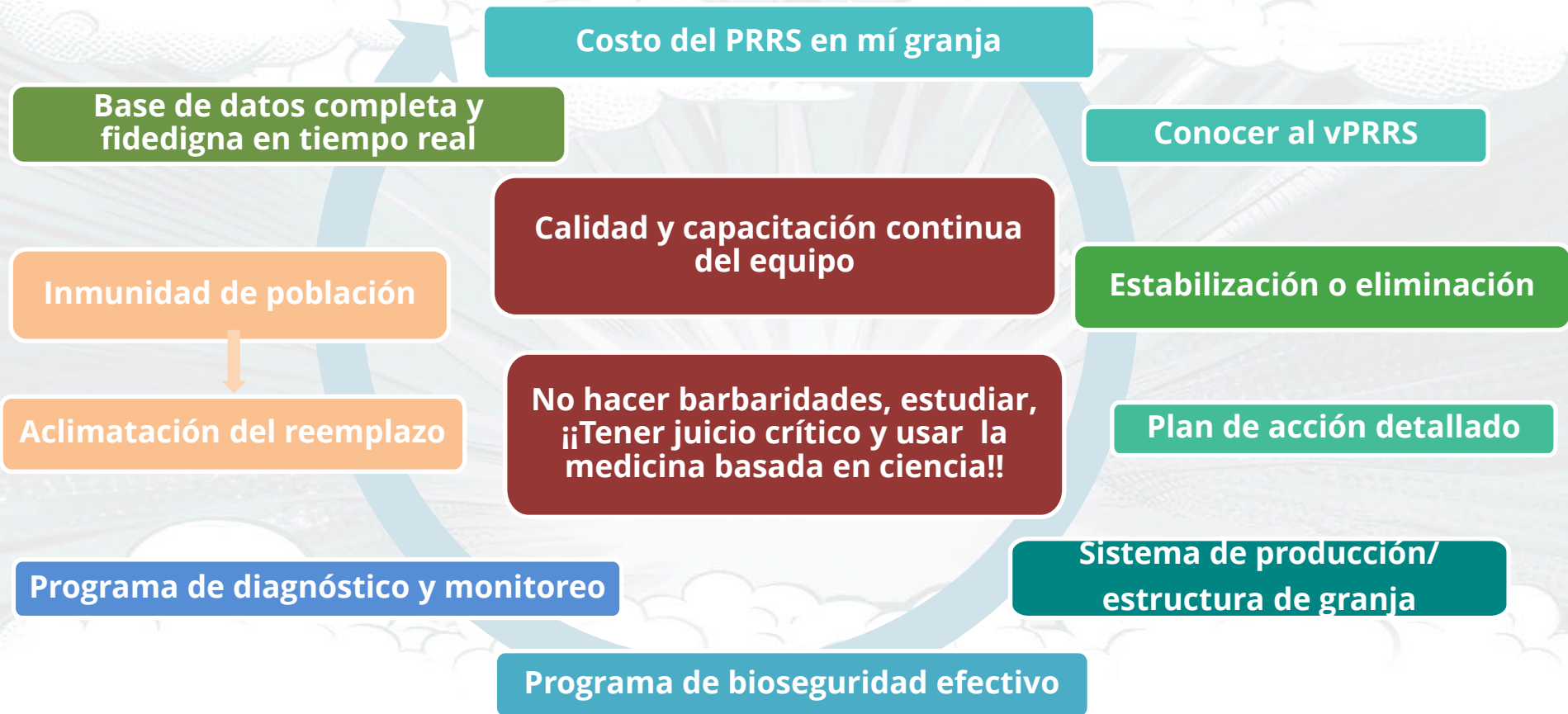
11. Una mayor viremia y carga viral, diferencias de 10^2 copias/mL en cerdos virulentos infectados por PRRSV. Por lo tanto, mayor excreción y transmisión mucho más fácil



**¿Estoy haciendo todo lo que debo
hacer o solamente lo que puedo
o quiero hacer?**



Los No Negociables

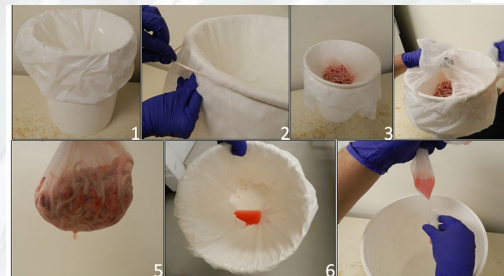
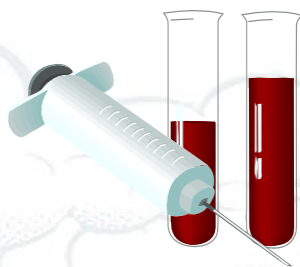


Diagnóstico del PRRS

Método		Libre de Infección (población)	Libre de Infección (animal)	Erradicación	Casos clínicos	Prevalencia/ vigilancia	Estatus Post-vacunación
Detección de Antígeno	Aislamiento Viral	-	++	-	+++	-	-
	PCR	+++	+++	+++	+++	++	-
	IHC	-	-	-	++	-	-
	ISH	-	-	-	++	-	-
Detección de Anticuerpos	ELISA	+++	++	++	++	+++	++
	IPMA	++	++	++	+	++	+++
	IFA	++	++	++	+	++	+++

IHC = immunohistochemistry method,
 ISH = *in-situ* hybridization,
 IPMA = immunoperoxidase monolayer assay,
 IFA = immunofluorescence assay.

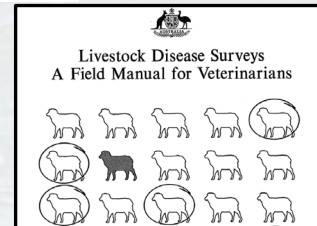
+++ = método recomendado
 ++ = método adecuado
 + = puede usarse en ciertas situaciones, pero el costo, la fiabilidad u otros factores limitan su aplicación
 - = no adecuado para esta finalidad
 n/a = no aplicable.



¡Tamaño y tipo de muestra, muy importante!

Depende de tres parámetros:

1. Lo que busco:
 1. *Dx inicial*
 2. *Status de las diferentes poblaciones en mí granja*
 3. *Éxito de las estrategias implementadas*
2. El tamaño de la población a monitorear, y
3. De la prevalencia estimada y del grado de confianza



Cannon, R.M., y Roe, R.T. 1984



¿Es una cepa nueva o el virus nunca se fue?

Recientemente VanderWall et. Al. 2023 reportaron los resultados de un estudio donde **un rebrote de PRRS se define como un segundo episodio clínica dentro de los 3 a 12 meses posteriores al anterior y que la secuencia del gen ORF5 obtenida en el rebrote es $\geq 97\%$.**

- Los resultados en la diferencia genética fueron de 1.57% (DE = 0,974%), y la media entre brotes fue de 208 días (DE = 71.7 días). Con estos criterios cumplidos, se procedió a la secuenciación del genoma completo.
- Los resultados indican que **se identificaron regiones de "puntos calientes"** que potencialmente contribuyen a un fenotipo de evasión inmune del vPRRS **que puede permitir que la variante reinfecte a una población previamente expuesta.**
- Por lo tanto, se concluye que no es raro que se presenten rebrotes de PRRS, a pesar de que la población haya sido recientemente expuesta a un virus muy relacionado.
- En el estudio se constató que los rebrotes son más leves que los causados por la introducción inicial del VPRRS.

BURLEIGH DODDS SERIES IN AGRICULTURAL SCIENCE

Surveillance on swine farms using antemortem specimens

Berenice Munguía-Ramírez, Betsy Armenta-Leyva, Luis Giménez-Lirola,
Chong Wang and Jeffrey Zimmerman, Iowa State University, USA



 burleigh dodds
SCIENCE PUBLISHING



Raspado de tonsilas en hembras (TOSc)



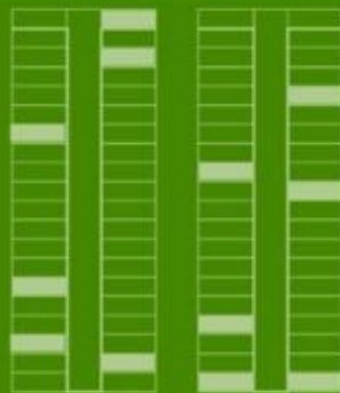
Un nuevo método de raspado de amígdalas (TOSc) que recolecta fluidos de la cavidad bucal y exudado de tonsilas. El método se desarrolló adaptando un método de muestreo de cerdas para la prueba y eliminación de cerdas infectadas con el vPPA en China 50 (Li, 2022). Se compararon muestras de TOSc, de suero y de raspado de amígdalas para la detección del vPRRS mediante la RT-qPCR y el valor promedio de Ct en casos de hembras en infección aguda.

https://papers.ssrn.com/sol3/papers.cfm?abstract_id=4509125

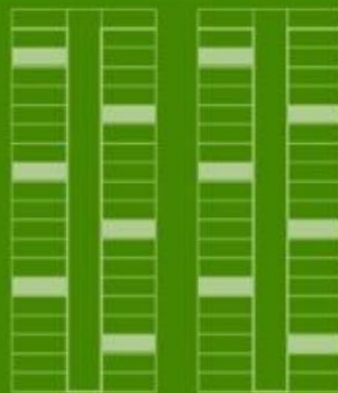
Muestreo fijo espacial

¿Cómo y de que sitios tomar las muestras?

Muestreo simple aleatorio



Muestreo fijo espacial



*“El **muestreo espacial es mejor** (que el muestreo aleatorio) cuando existe autocorrelación” Wang et al. 2012. *Spatial Statistics* 2:1-14.*

Vigilancia ambiental pasiva

(PES, por sus siglas en inglés)

Detecta patógenos circulantes en la población de interés mediante el muestreo del entorno. A diferencia del muestreo ambiental puntual, los muestreadores de PES permanecen en su lugar a lo largo del tiempo, aumentando así la probabilidad de detección.

Armenta-Leyva et al. 2023. Paper sampling for passive environmental surveillance for swine pathogens. 2023 NAPRRS/NC229 ICSVD

<https://link.springer.com/article/10.1007/s00216-004-2830-8>

Rutas de Transmisión del vPRRS



Actitud del Responsable de Bioseguridad

B = 1

Conocimiento



Probabilidad				
	Muy probable	Probable	Improbable	Altamente improbable
Consecuencias	Tolerante Riesgo Adverso			
	Lesiones importantes	Alto	Alto	Medio
	Lesiones insignificantes	Medio	Medio	Bajo
	Baja Bioseguridad Alta			



riesgo

que se repite
en la granja

Vaillancourt, J.P. 2004

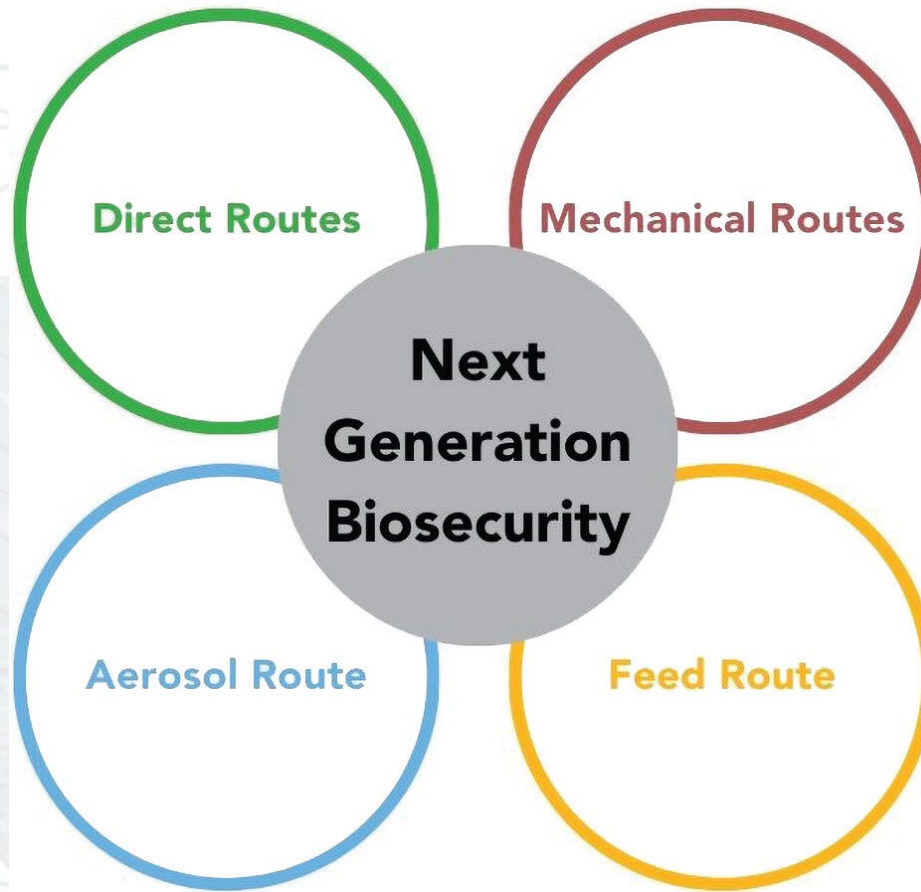
Bioseguridad de próxima generación (NGB)

Objetivo: El propósito de este estudio fue determinar si la aplicación de un enfoque integral basado en la ciencia para la bioseguridad del rebaño de cría, conocido como bioseguridad de próxima generación (NGB), podría reducir el riesgo de incidencia de PRRS en una gran empresa de producción comercial.

Durante el período de evaluación de 2 años, 56 granjas reproductoras fueron clasificados como NGB COMPLETOS, mientras que 20 como NGB INCOMPLETOS.

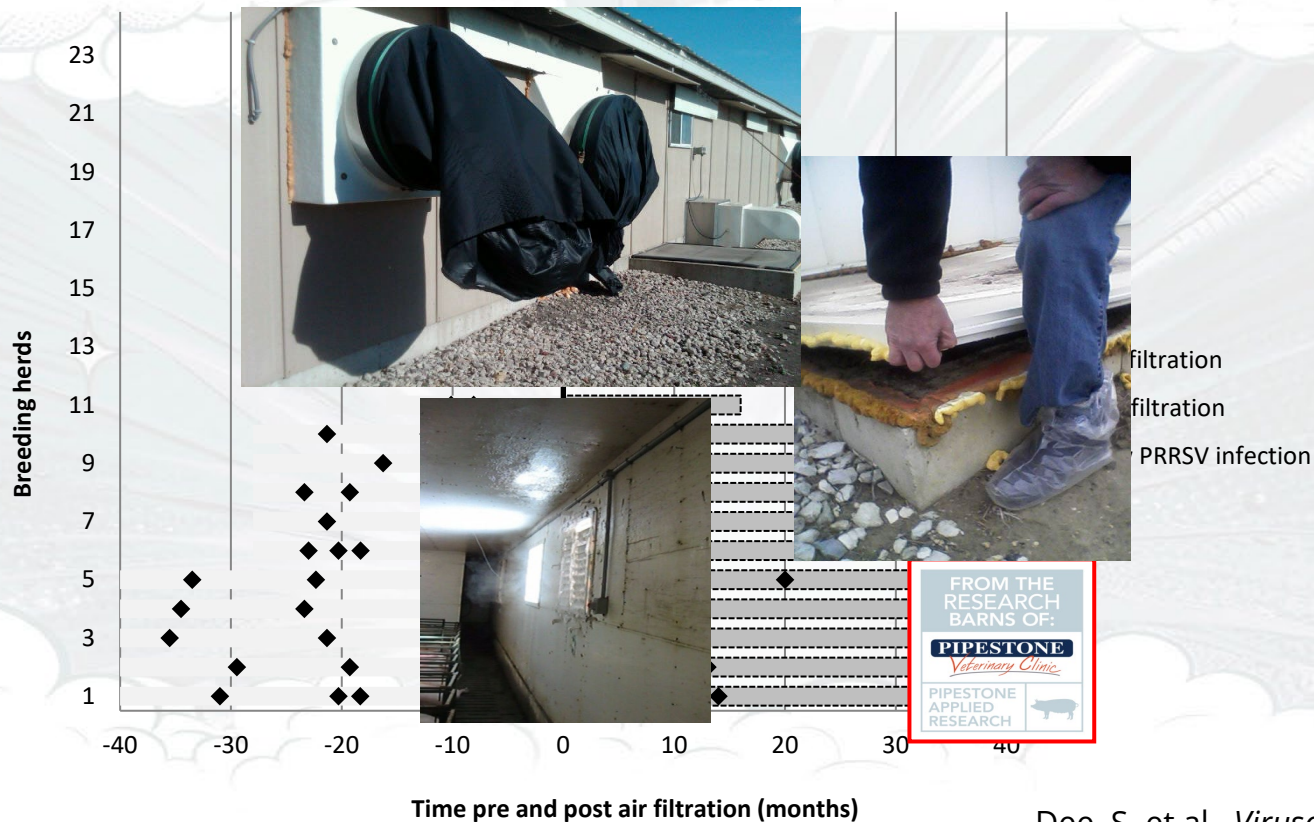
Resultados: El riesgo de incidencia de PRRS en las granjas NGB COMPLETE fue del 8,9% en comparación con el 40,0% en los rebaños NGB INCOMPLETOS.

Figure 1

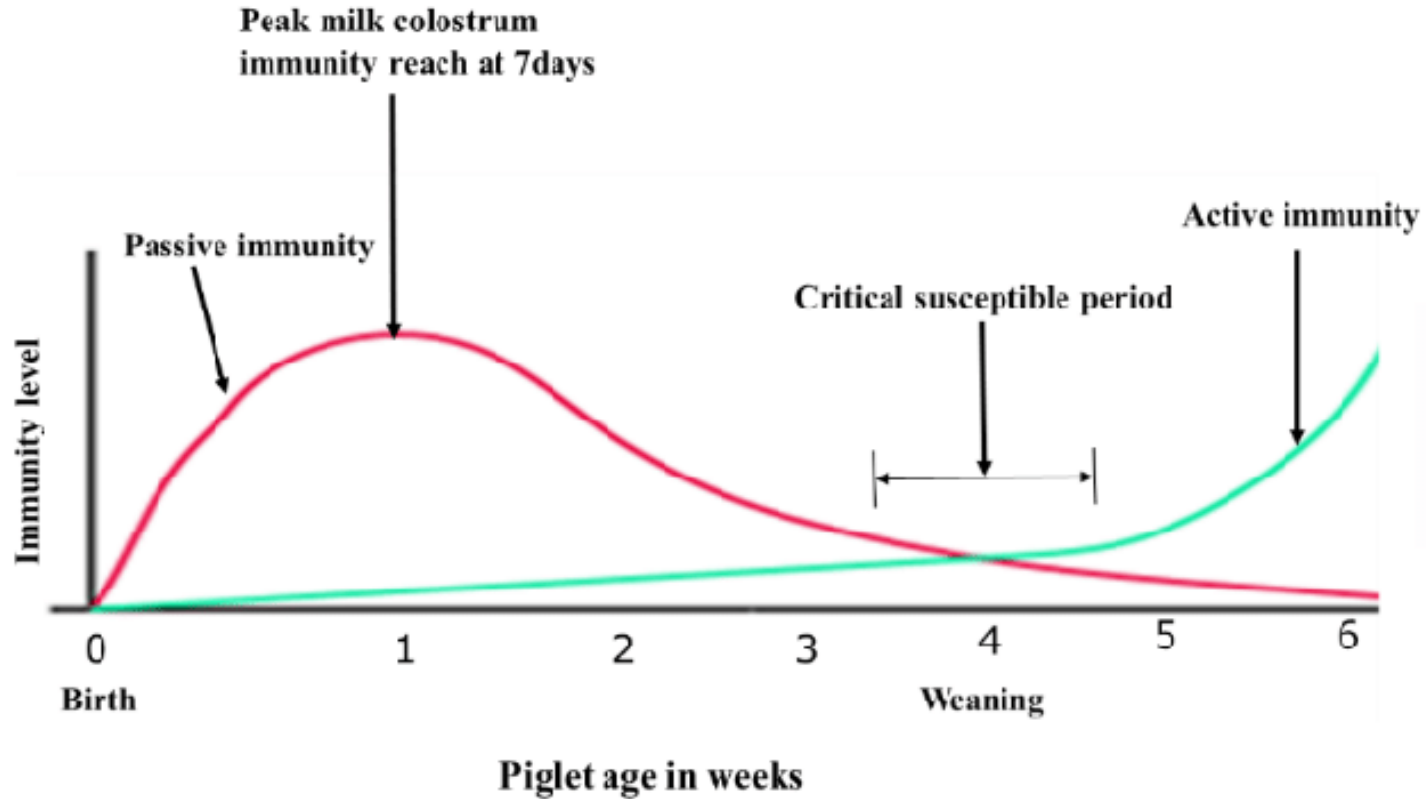


The relationship of the selected routes of direct and indirect PRRSV transmission targeted by the next-generation biosecurity approach.

¿ Filtración de aire?



Inmunidad de Población Robusta



Inmunidad Robusta de Población

1. Aclimatación de primerizas y % de reemplazo anual.

2. Inmunidad del resto del pie de cría.

3. Calidad del lechón al nacimiento.

4. Calidad del calostro.

5. Manejo de la camada al nacimiento.

6. Calidad del lechón al destete.

7. Programa de inmunización contra PRRS.

8. Control de los patógenos presentes en granja: vacunación y medicación.

9. El A, B, C del manejo.

10. Capacitación del personal.



Opciones de Inmunización

1. Ninguna

2. Suero inoculación

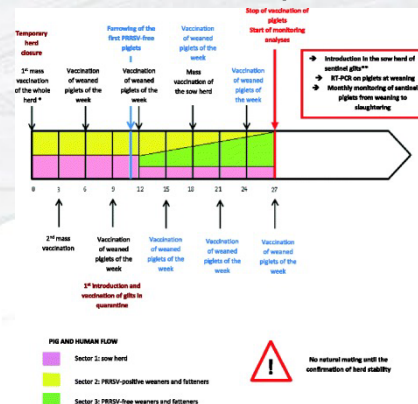
- a) Pie de cría
- b) Primerizas
- c) Pie de cría y primerizas

3. Vacuna

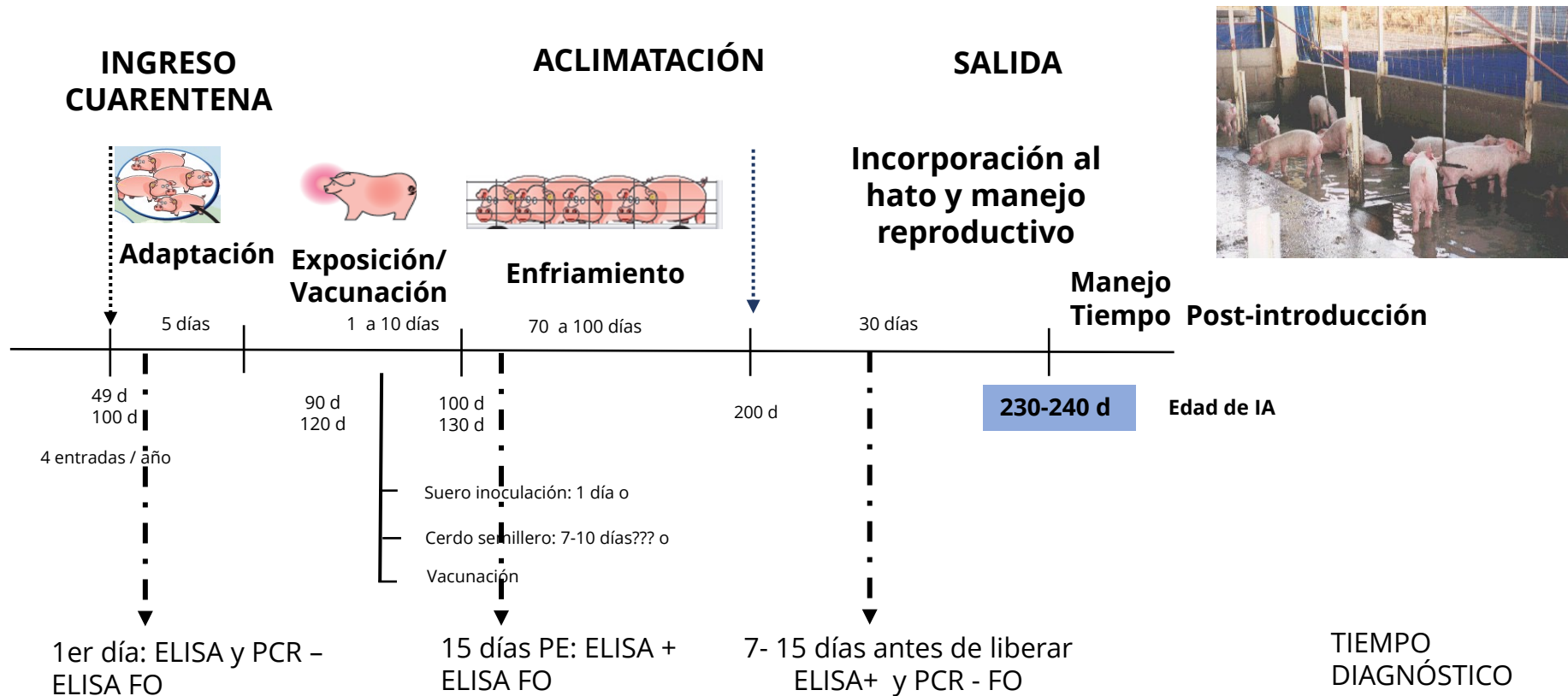
A. Viva modificada

- a) Pie de cría (masiva)
- b) Primerizas
- c) Pie de cría y primerizas
- d) Lechones en maternidad
- e) Lechones en crecimiento (por edad, masiva)

B. Inactivada

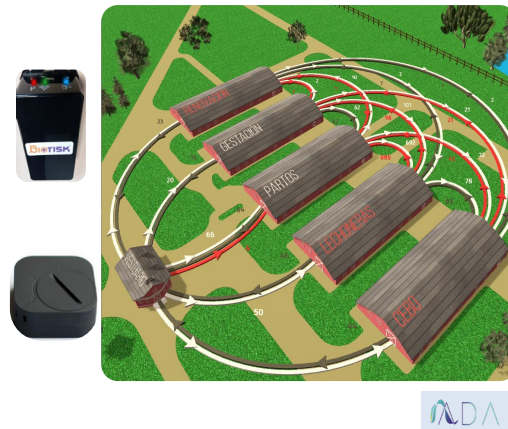


Aclimatación de primerizas



Capacitación continua de nuestro Equipo

Las personas lo hacen todo!



“Las granjas que tienen altas tasas de éxito y estabilidad de producción invariablemente tienen menor rotación de personal ...

Lambert, M.E. 2010



Conclusión

Implementar una estrategia de obstáculos múltiples, o sea:

“... introducir en múltiples ocasiones, procedimientos de nivel fundamental que utilizadas secuencialmente son más efectivas para reducir y eliminar patógenos comparado con la suma de obstáculos individuales.”

Leistner, 2000. J. Food Micro. 55:181-186.



¡Muchas gracias!

*"Locura es hacer siempre lo mismo
y esperar resultados diferentes"*

Albert Einstein

*"Inteligente es quien solo cree la
mitad de lo que escucha, brillante
es quien sabe que mitad creer"*

Jeff Cooper

