

# JORNADA PRRS TÉCNICA AVPA



## Rastreando al virus PRRS: de la **S**ecuenciación a la **A**cción.

Alberto García Flores

Coordinador Técnico Veterinario Inga Food, SA



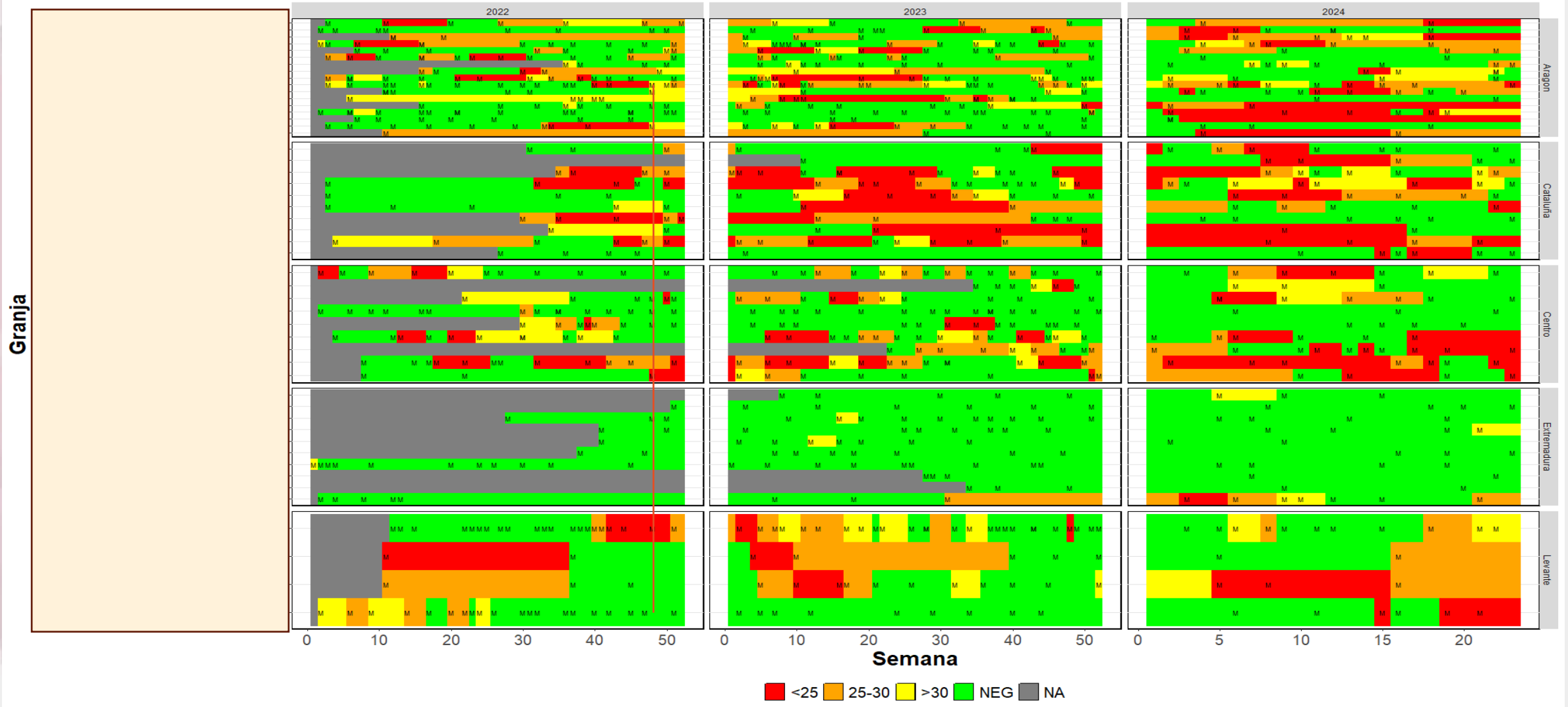
Facultad de Veterinaria  
Universidad Zaragoza



**MESA REDONDA:** *Uso de la secuenciación como herramienta de control epidemiológico y bioseguridad colectiva.*



# Mapa de estatus sanitario de las explotaciones



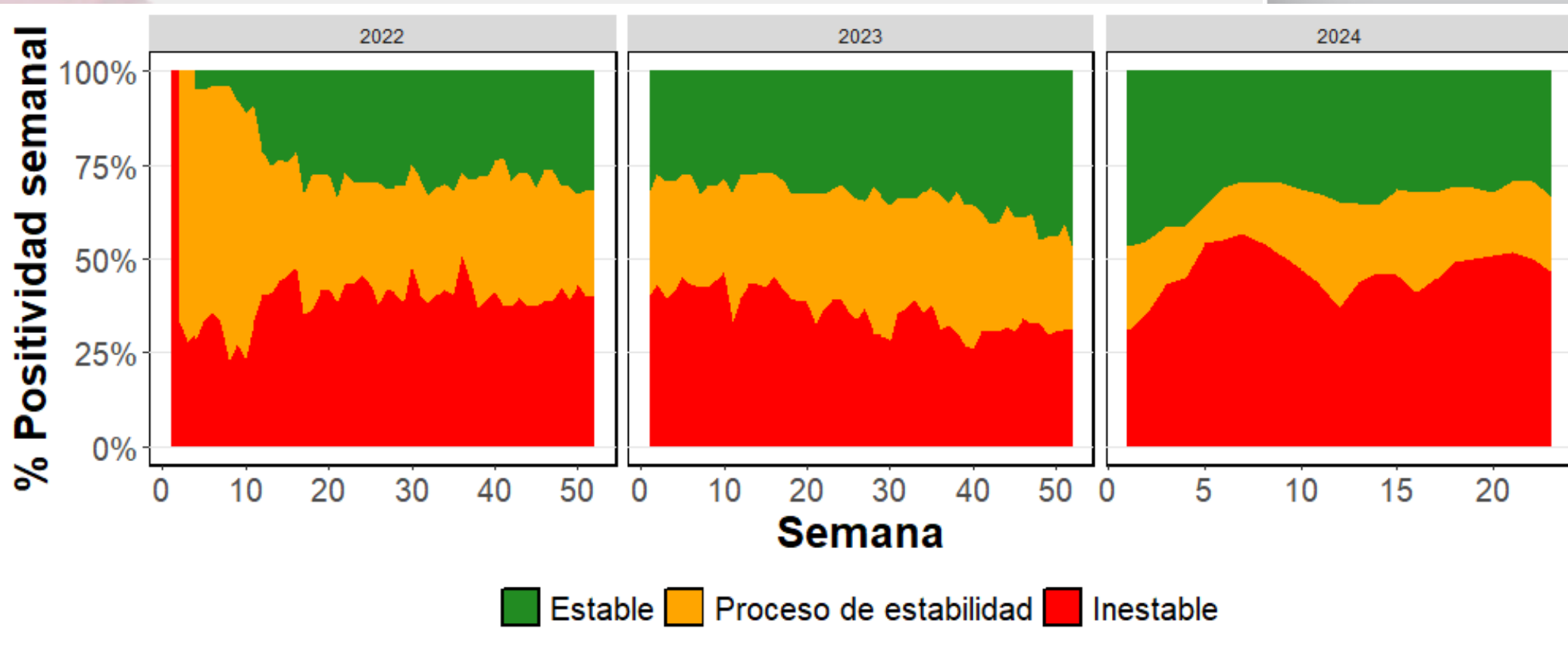
# Evaluación del estatus sanitario de las granjas



## Evolución de la ESTABILIDAD

Se siguen los criterios de AASV

Herd category	Shedding status	Exposure status
I) Positive Unstable	+	+
II-A) Positive Stable	?	+
II-B) Positive Stable (undergoing elimination)	?	+
III) Provisional Negative	-	+
IV) Negative	-	-

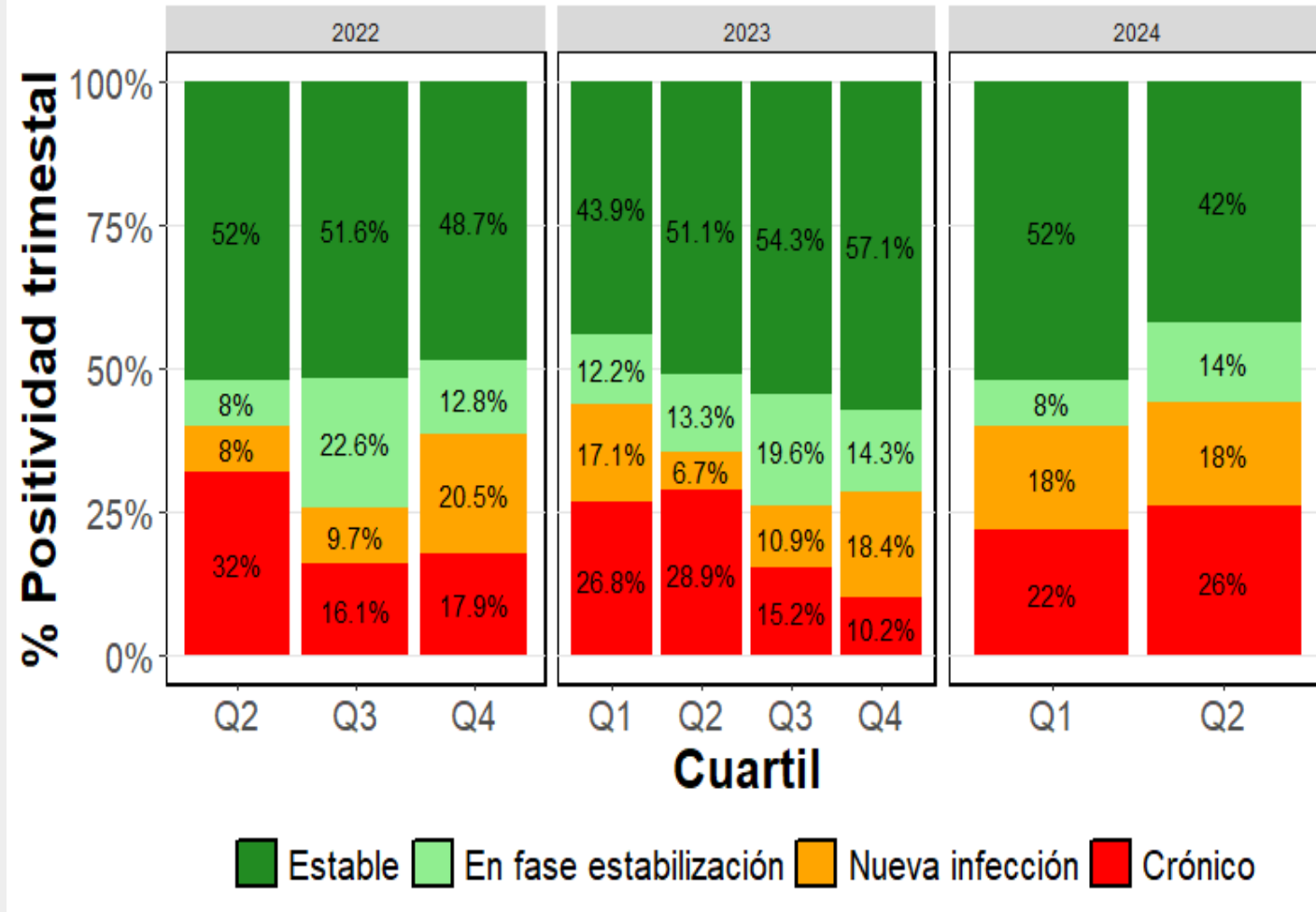
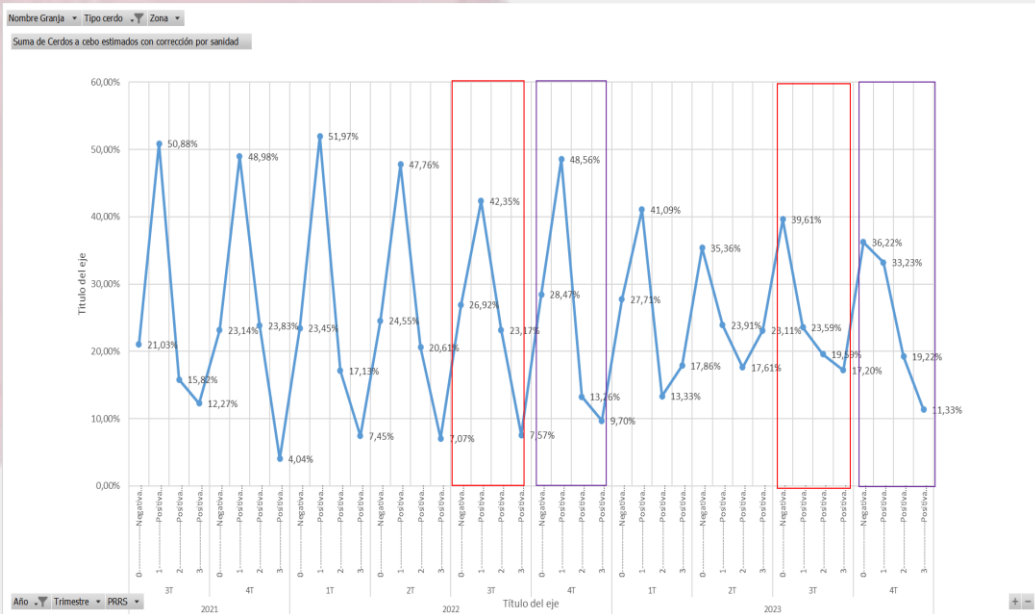


# Estatus sanitario de las granjas (precisar dinámicas infección)



## Dinámicas de infección

	Q ant	Q actual
<b>Estable</b>	PCR -	PCR -
<b>En fase estabilización</b>	PCR +	PCR -
<b>NI (nueva infección)</b>	PCR -	PCR +
<b>Crónico</b>	PCR +	PCR +





# Utilidad de la secuenciación ORF5.

- 1) Homología entre cepa campo y base de datos:
  - Similitud con cepas vacunales o con una cepa de referencia.
  - Similitud con cepa aislada en la misma granja/empresa/region.
- 2) Estrategias de procesos, manejos y bioseguridad:
  - Permitirnos evaluar si estamos frente a una nueva cepa o es cepa residente.
- 3) Mapear las cepas de PRRS aisladas por empresa y/o región:
  - Determinar si son cepas de empresa o localización geográfica.
  - Evaluar la capacidad de diseminación de las cepas en un período determinado de tiempo.
- 4) ¿Podemos utilizarla como predictor de la eficacia vacunal?

# Planteamiento inicial.

Lo importante es si mi unidad productiva es negativa/positiva y cuál es el estatus sanitario de las granjas próximas.



- ¿Qué puedo hacer para protegerme de nuevas infecciones laterales (ubicación crítica) y cómo debo monitorizarlo? (**bioseguridad externa**)
- ¿Cómo puedo monitorizar si mi programa y medidas de **bioseguridad interna** son eficaces?
- ¿Cómo monitorizar si soy capaz de evitar infectar a otras unidades productivas? (**biocontención**).



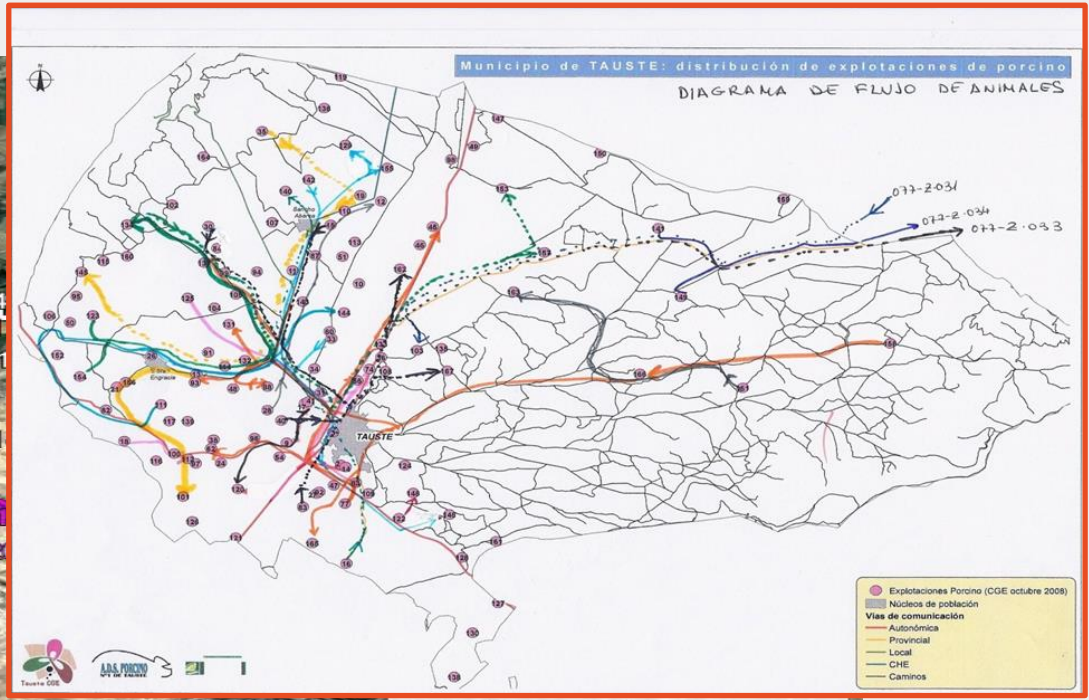
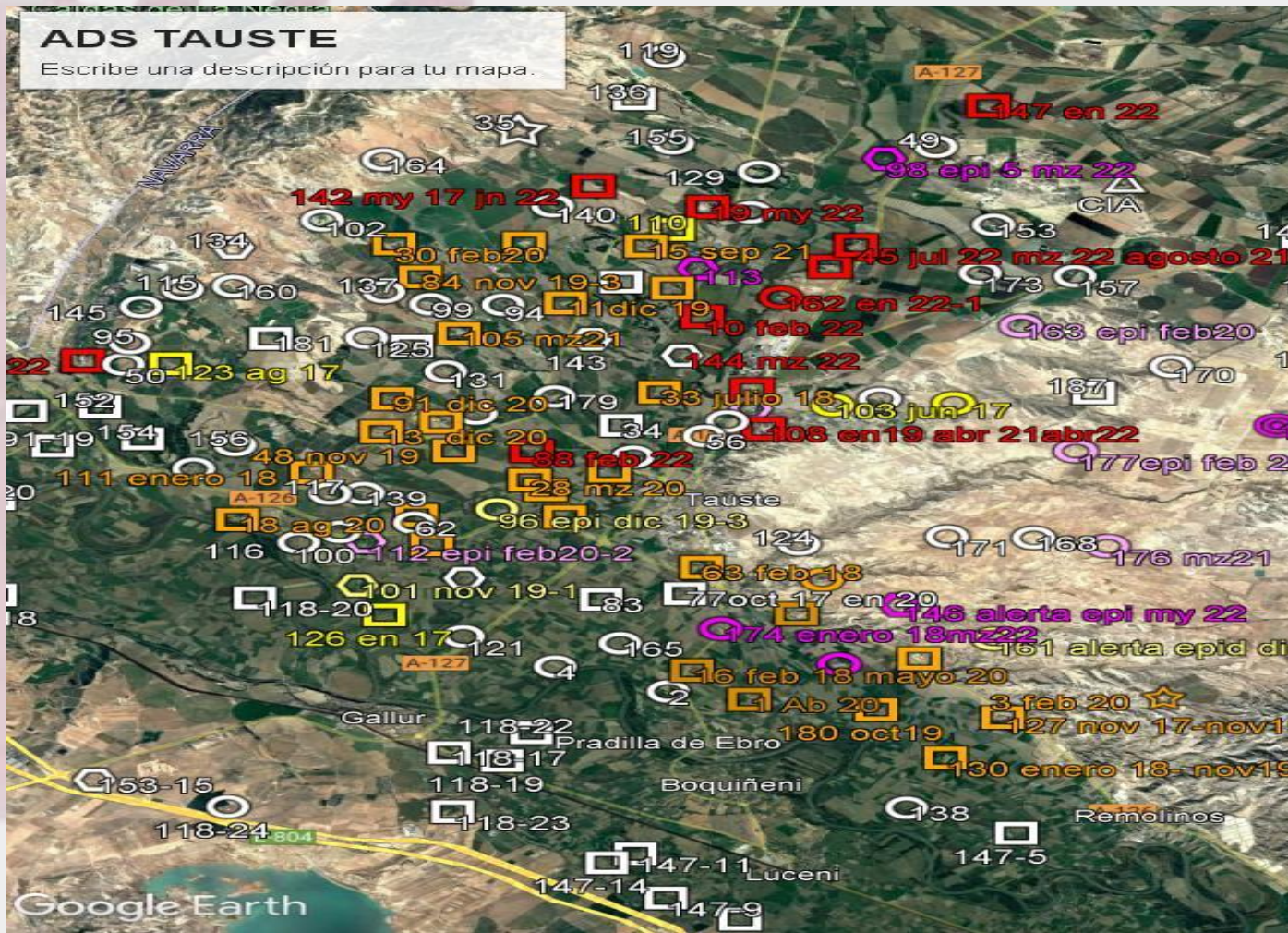
Secuenciación tiene consideración de **herramienta epidemiológica**:

- 1) Detección posibles orígenes nuevas fuentes de virus.
- 2) Evaluación de bioseguridad externa.
- 3) Evaluación de medidas de biocontención (crítico establecer un programa de muestreos continuados).
- 4) Permite reorganizar flujos de producción y rutas logísticas de animales.
- 5) Permite evaluar eficacia medidas implementadas en granjas infectadas por la misma cepa.

# 1) Detección posibles orígenes nuevas fuentes de virus: La importancia de la BIOSEGURIDAD y FORMACIÓN.

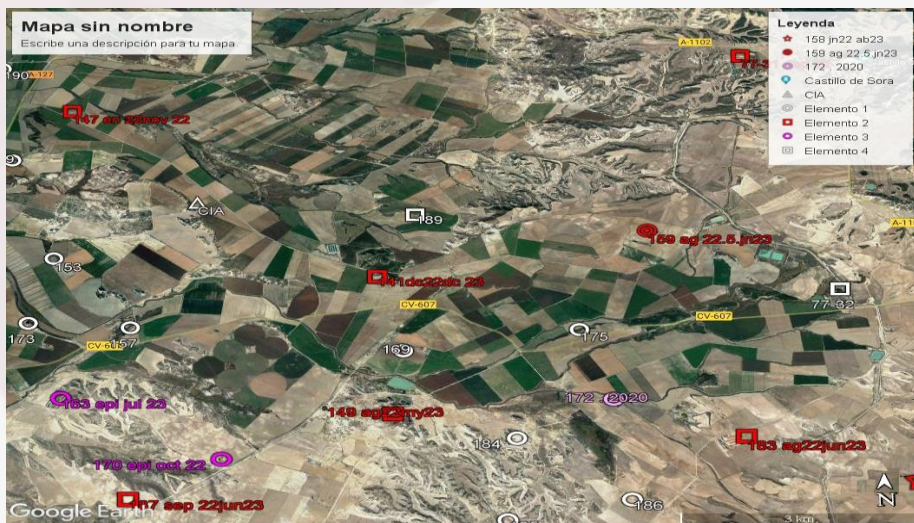
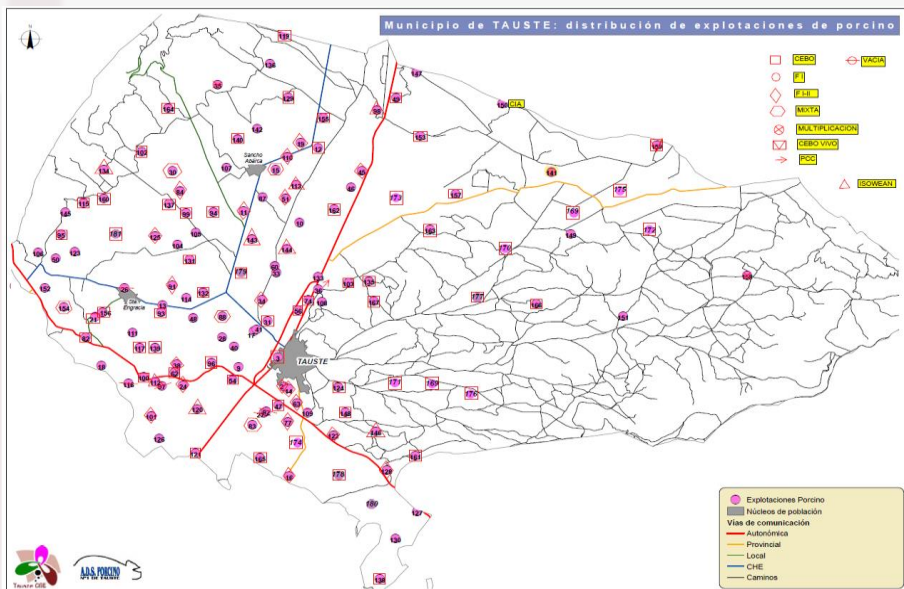


ADS COMPLETA



- Elemento 6
- ⊙ Elemento 7
- Elemento 8



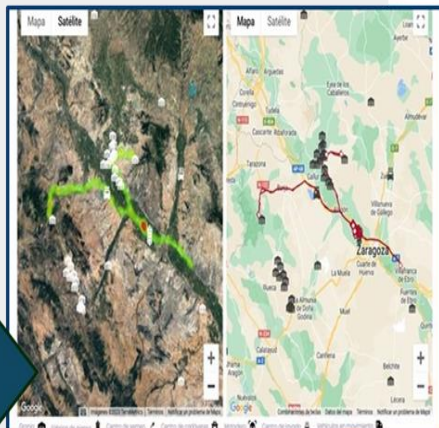


## Detección posibles orígenes nuevas fuentes de virus.

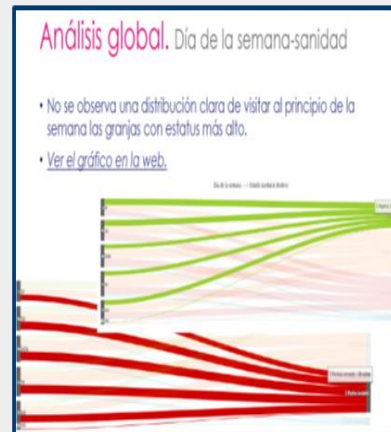
- Inicio proyecto de control regional PRRS Tauste > cambio de paradigma de considerar responsabilidad de terceros a introspección.
- Dificultad: **“oscuridad epidemiológica”** al no disponer de la información completa de estatus sanitario todas unidades productivas independientemente de orientación productiva (chequear/secuenciar cebaderos) > compartir información (secuencias).
- Incidir en programas de bioseguridad y formación.



# La importancia de la BIOSEGURIDAD y FORMACIÓN.



**Nuevas herramientas tecnológicas para gestión de bioseguridad**



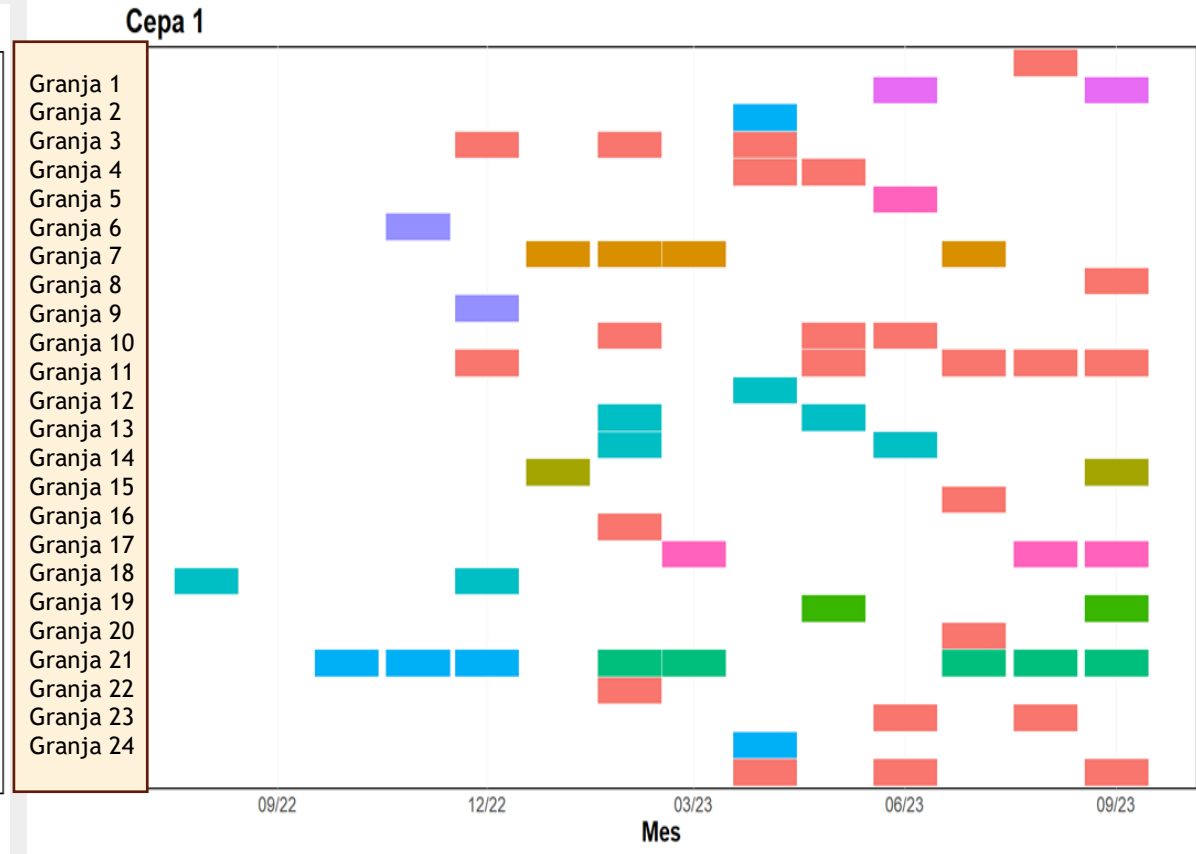
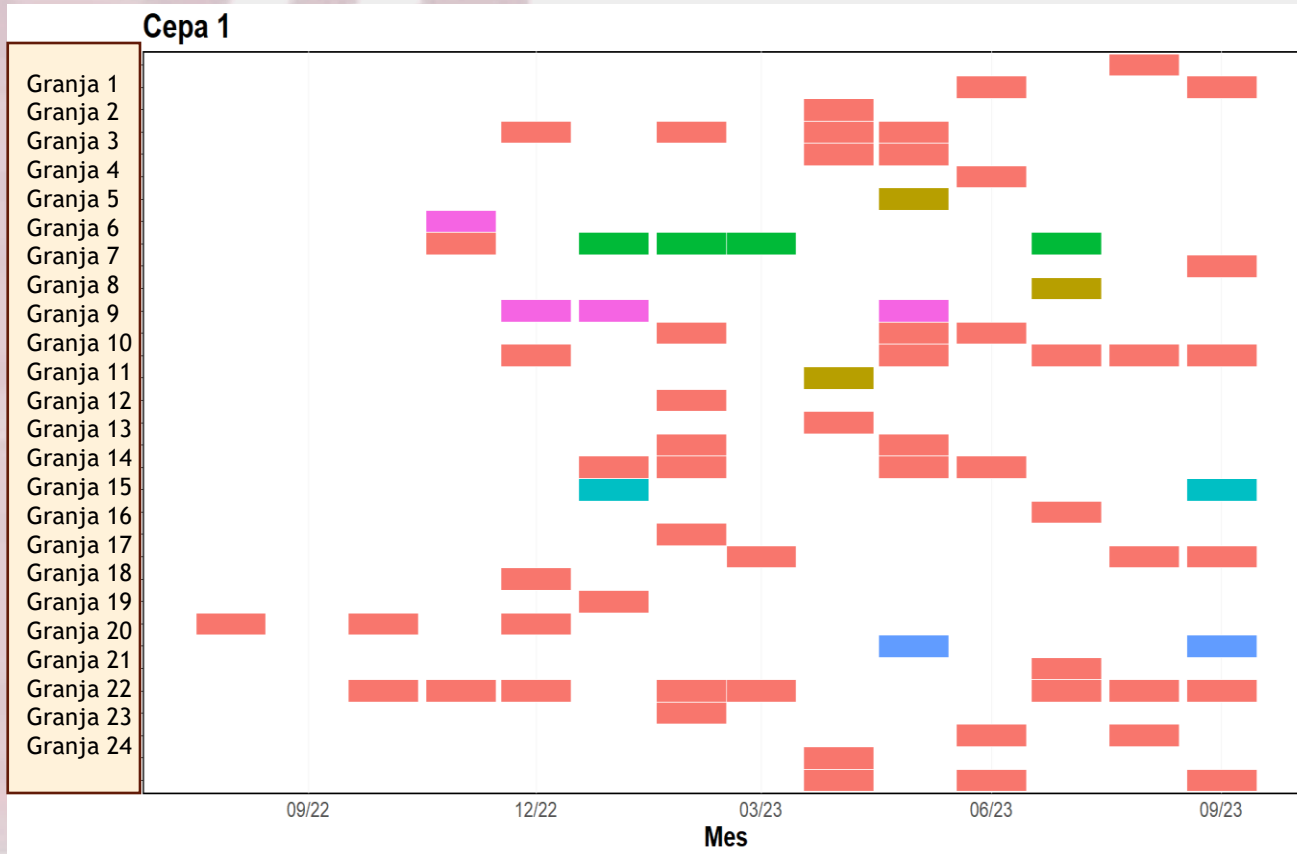
- External biosecurity
- Internal biosecurity
- Biocontainment



\*Fuente PigChamp (Biorisk)

# 2) Análisis de la Bioseguridad Externa (e interna): Seguimiento del impacto cepas en base a secuenciación ORF5

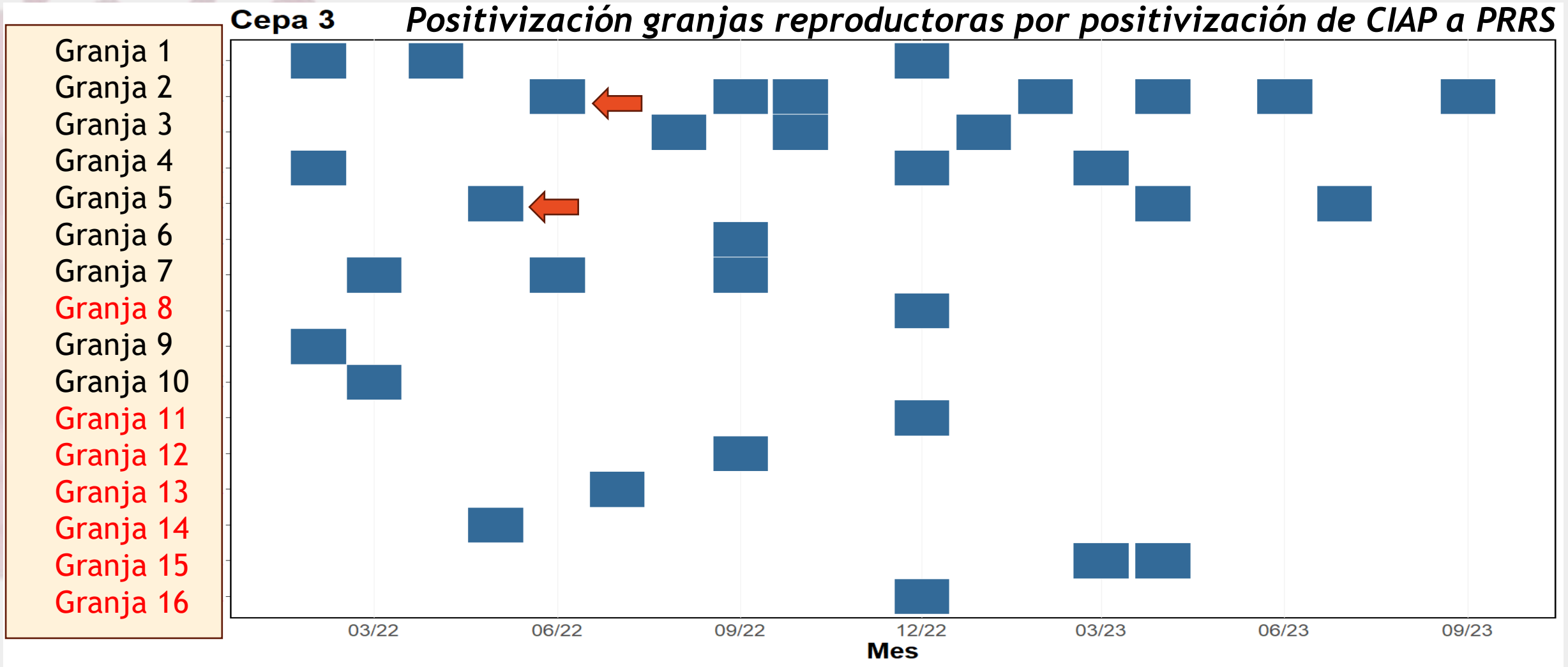
Distintas variantes de cepas **ROSALÍA**



*Cepas con un >95% de similitud con cepa Rosalía  
Dentro de Rosalía, misma cepa cuando >97,5% de similitud*

*Cepas con un >95% de similitud con cepa Rosalía  
Dentro de Rosalía, misma cepa cuando >98% de similitud*

# 3) Análisis de la capacidad de biocontención: Seguimiento del impacto cepas en base a secuenciación ORF5



## 4) Análisis de la capacidad de biocontención: reordenación logística.



Importancia de adecuada rutina en toma de muestras y secuenciación.



Importancia de secuenciar en caso de brotes en granjas de alta sanidad (multiplicadoras y CIAs).



Reordenación logística para mantener origen y engorde de lechones en misma ubicación geográfica y para evitar transmisión de virus a otras estructuras de la empresa.

## 5) Evaluación de eficacia de medidas a implementar para limitar impacto productivo y económico: Seguimiento del impacto cepas en base a secuenciación ORF5.

### IMPACTO PRODUCTIVO DE 4 BROTES DE PRRS CAUSADOS POR LA MISMA CEPA

	Tiempo de recuperación de producción basal	Lechones destetados/camada prebrote	Camadas durante brote	Destetados /camada brote
Granja 1	20	13,14	1862	10,22
Granja 2	20	12,76	2001	10,04
Granja 3	15	13,56	1146	12,85
Granja 4	31	12,42	5112	11,78



## Y surgen las dudas...

- 1) %homología en ORF5 por consenso misma cepa: 97% ¿y 96,5%?
- 2) 100% similitud en ORF5, ¿estamos frente a la misma cepa?... Sí, en ORF5.
- 3) ¿Hay más de una cepa en la misma granja? En caso afirmativo, ¿estamos secuenciando la correcta?... Si en muestreos sucesivos detectamos de forma continuada la misma cepa, deberíamos concluir que es la única o la que predomina.
- 4) ¿Una nueva detección es una entrada lateral o un recombinante?... ¿me deben preocupar los recombinantes?

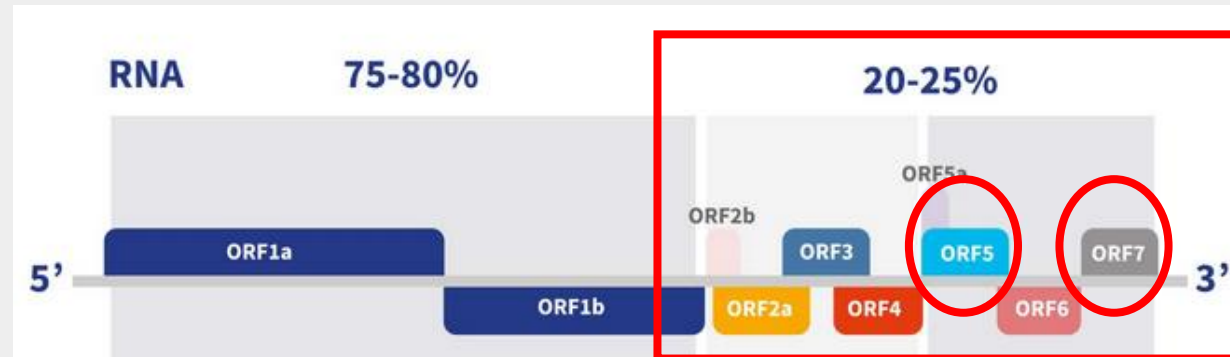


# Uso de la secuenciación completa (ORF2-7)

## Servicio de secuenciación PRRS

PCR

Secuenciación



Genoma del PRRS: 15.300 bases

ORF7: 387 b (2,5%) → RT-qPCR → DETECCIÓN

ORF5: 606 b (4%) → RT-qPCR + Secuenciación Sanger → CARACTERIZACIÓN

ORF2-7: 3.200 b (21%) → RT-qPCR + NGS sequencing → ANÁLISIS DE RECOMBINANTES

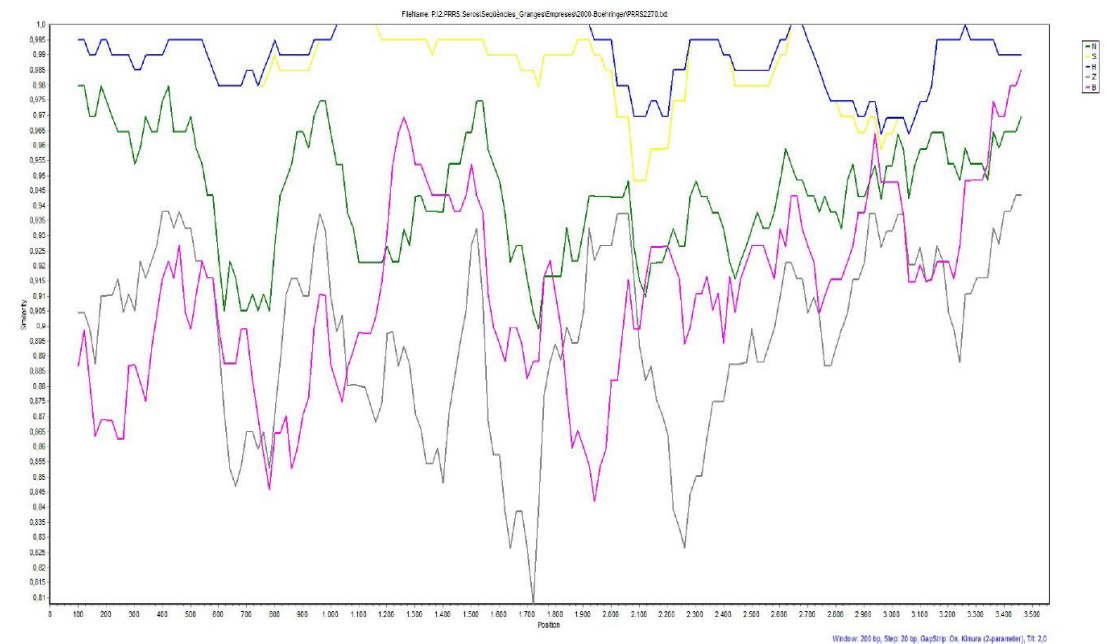
# Uso de la secuenciación completa

- 1) La secuenciación menos interferencia con poblaciones previamente negativas (multiplicadoras/recrías/CIAs)
- 2) Confirmación si estamos frente a una cepa vacunal o recombinantes (sólo ORF5 no es suficiente)
- 3) Confirmación si estamos frente a una nueva entrada lateral (sólo ORF5 no es suficiente y se acompaña de clínica)

## 1.1 Alineación de las secuencias ORF5



## 2.4 Comparativa con gráfico SimPlot





Gracias por  
vuestra  
atención.

