

JORNADA PRRS TÉCNICA AVPA



Una verdad incómoda (algunas...)

Ivan Díaz Luque

Departamento de Sanidad y Anatomía Animal, UAB

UAB
Universitat Autònoma
de Barcelona



AWEC

ANIMAL
WELFARE
EDUCATION CENTRE

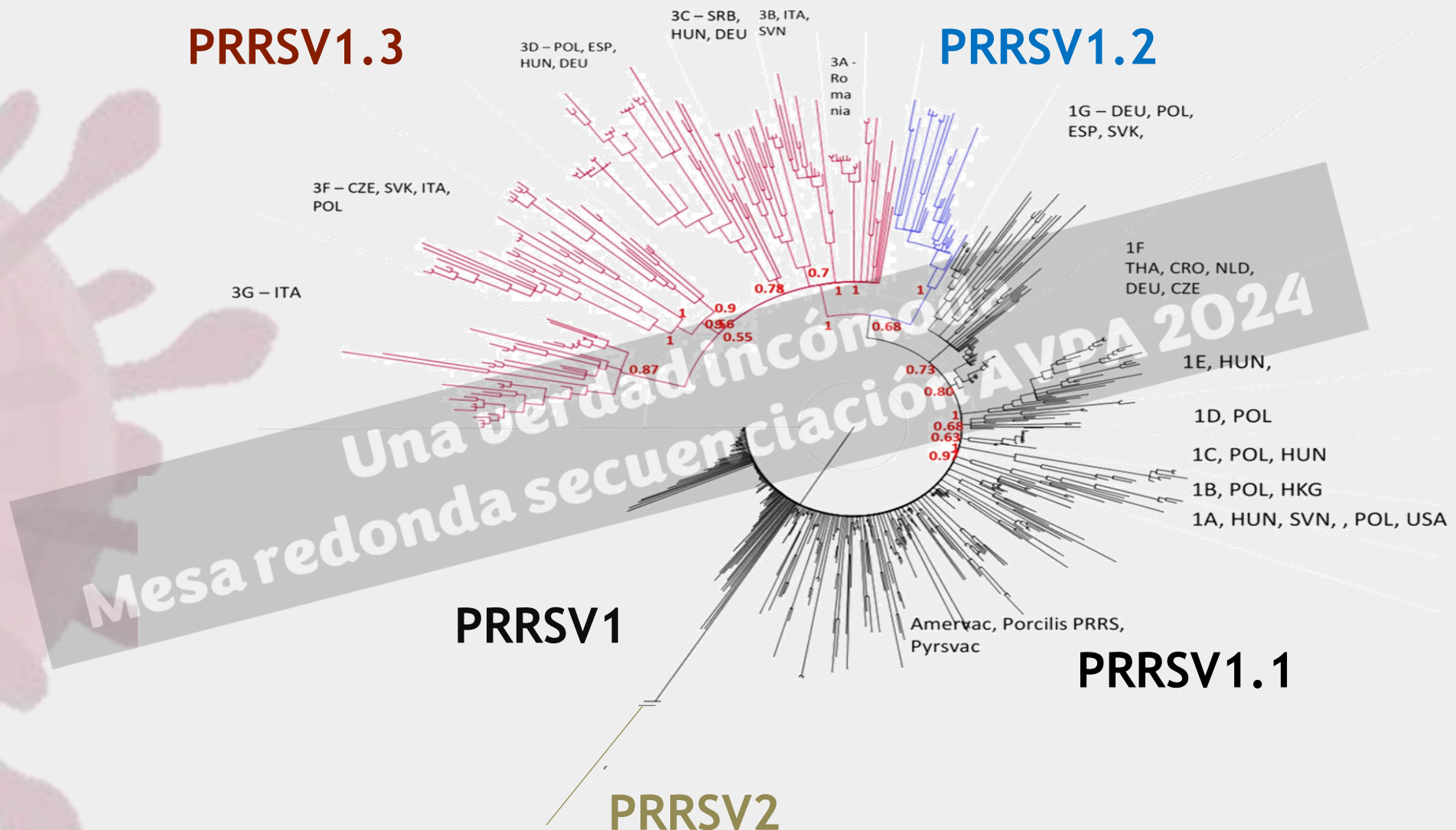


Facultad de Veterinaria
Universidad Zaragoza



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





Balka et al., 2018. Genetic diversity of PRRSV 1 in Central Eastern Europe in 1994-2014: origin and evolution of the virus in the region





Cuasiespecies



Tasa de mutación

Subs/site/year

0,05
0,045
0,04
0,035
0,03
0,025
0,02
0,015
0,01
0,005
0

- Fiebre Amarilla
- Arteritis Vírica Equina
- Hepatitis C
- Influenza aviar
- Fiebre Aftosa
- Influenza humana
- HIV
- Enterovirus humano

• PRRSV

Una verdad incómoda
Mesa redonda secuenciación AVPA 2024

Single infection

Virus replication

Virus + mutations

Jenkins *et al.*, 2002; Holmes, 2007; Gago *et al.*, 2009; Díaz I, The book for PRRS knowledge, 2018; Clilverd H. Tesis, 2024

A mayor circulación/replicación, más variabilidad y posibilidad de que aparecerán más cepas/variantes más aptas/virulentas/diferentes.

Mayor deriva genética anual de cepa virulenta

Ct saliva	Ct suero
10	10
13	13
17	17
20	20
23	23
26	26
30	30
33	33
36	36
40	40

Rosalía vs cepa convencional

Cantidad excretada

Hasta x10.000

Duración excreción

3 vs 0,5-1,5 meses

Viremia

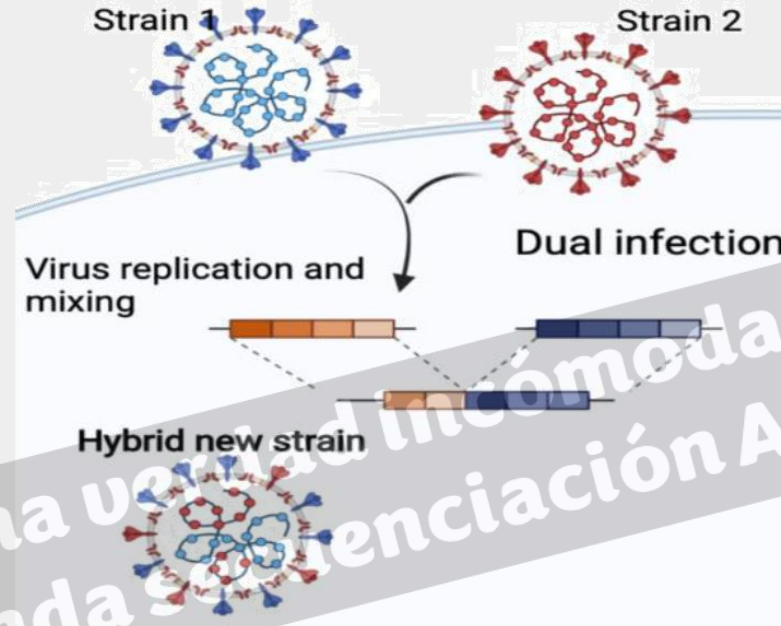
Hasta x100.000

Duración viremia

>8 vs <5 semanas

Una verdad incómoda
Segunda secuenciación AVPA 2024

**→ A más replicación y transmisión, mayor número de eventos de mutación
(Mayor deriva genética anual = tiene más oportunidades de cambiar)**



Una vez más, la recombina-
ción AVPA 2024

En PRRSV, la recombinación se ha descrito entre:

- Cepas de campo
- Cepas de campo y cepas vacunales
- Cepas vacunales
- Entre variantes (cuasiespecies) de la misma cepa

Yuan et al., 1995 y 1999; Li et al., 2009; Liu et al., 2011; Wenhui et al., 2012; Eclercy et al., 2019; Kvisgaard et al., 2020; Trevisan et al., 2023; Clilverd et al., 2024

Mutación

Recombinación

Selección: Mayor capacidad de transmisión y/o replicación, escape inmunológico, inhibición respuesta inmunológica...

Origen de *nuevos virus*

- *Nuevas cepas*
- *Nuevas cepas virulentas*
- *Variantes escape inmunitario*
- *Variantes mayor tasa replicación*

Diagnóstico y secuenciación

- Continuo *update* PCR
- Interpretación secuenciación

HP-PRRSV

JXA1
HEB1
HUB2
SY0608

2006



14LY01-FJ
14LY02-FJ
15LY01-FJ
15LY02-FJ
GSWW/15

PRRSV1 virulentas

Cepas PRRSV2 virulentas

2006

1980s- VR2332
1990s- SAMS-JA142
2000s- MN 184
2010s- 1-7-4
2020s- 1-4-4

New PRRS strain is more deadly

A porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV) 1-a-4-4-1C variant strain emerged in the United States in October 2020 and has spread widely, causing high production losses.



Una verdad incómoda
Mesa redonda secuenciación AVPA 2021

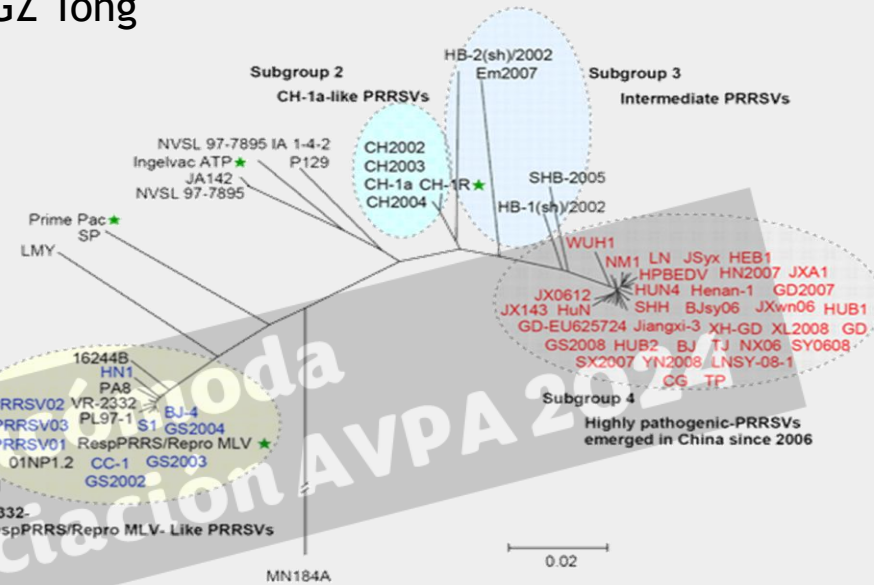
Modificado a partir de Ruedas-Torres et al., 2021

Karniychuk et al., 2010; Sinn et al., 2016; Stadejek et al., 2017; Canelli et al., 2017 y 2018; Martín-Valls et al., 2023; Ruedas-Torres et al., 2021; Zhou Z. China Animal Disease Control Centre and WOAH, 2023

Origen del virus del síndrome respiratorio y reproductivo porcino altamente patógeno, China

TQ An, ZJ Tian, Y Xiao, R Li, JM Peng, TC Wei, Y Zhang, YJ Zhou, GZ Tong

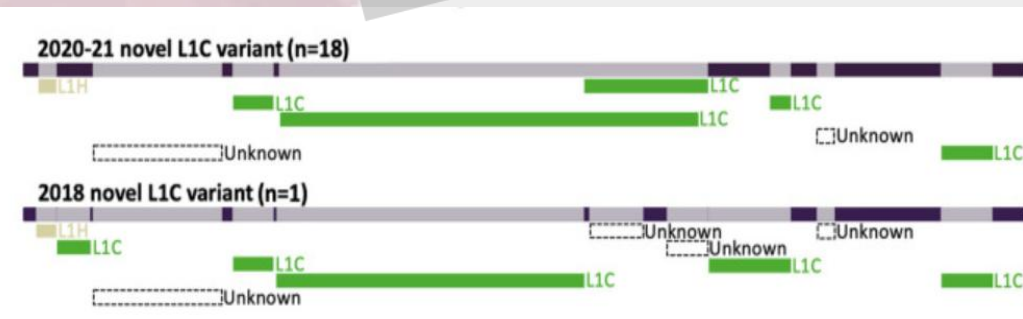
Emerg Infect Dis. 2010 Feb;16(2):365-7



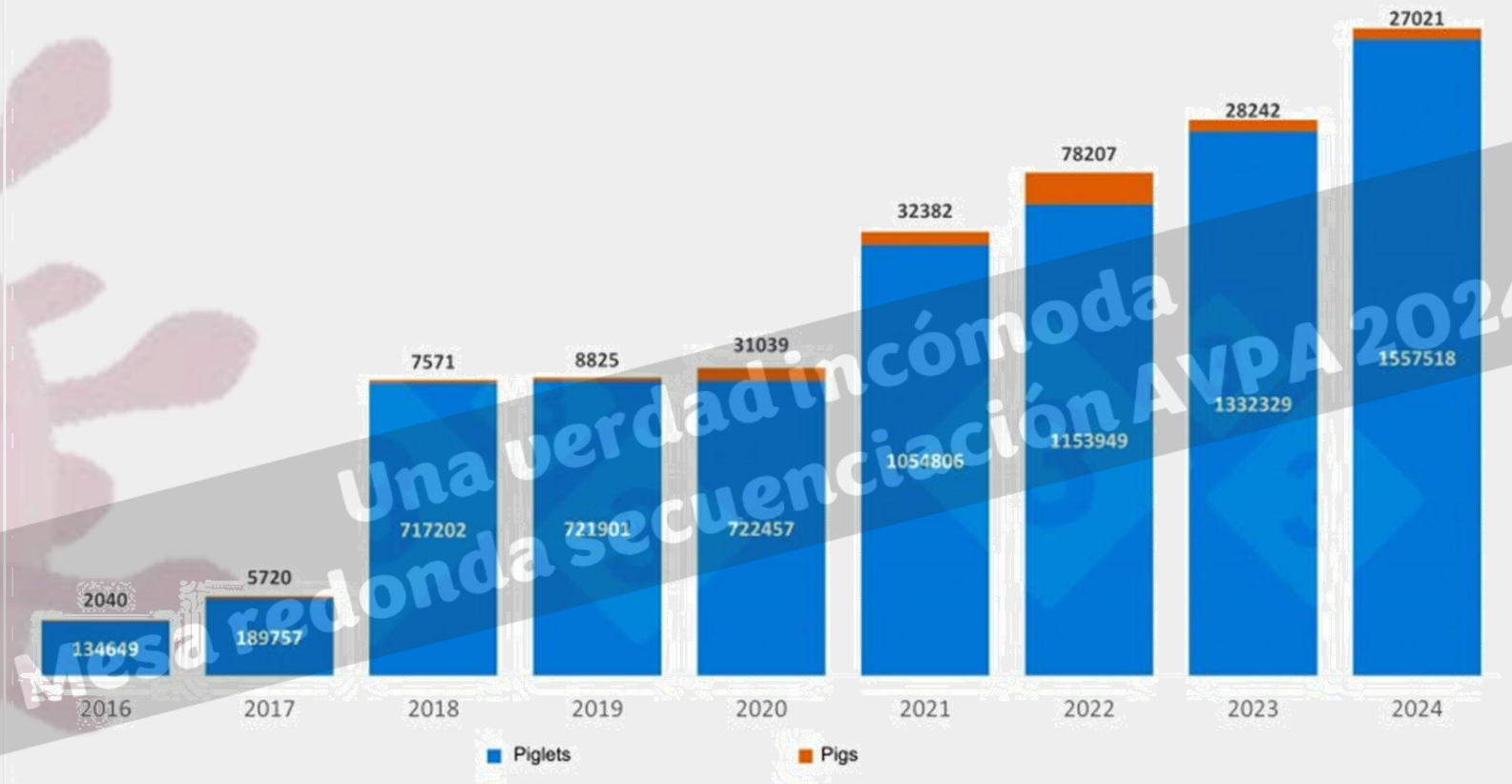
Midiendo cómo la recombinación remodela la historia evolutiva de PRRSV-2: un análisis filodinámico basado en el genoma de la aparición de una nueva variante de PRRSV-2

N Pamornchainavakul, M Kikuti, IAD Paploski, DN Makau, A Rovira, CA Corzo, K VanderWaal

Front Vet Sci. 2022 Mar 25;9:846904



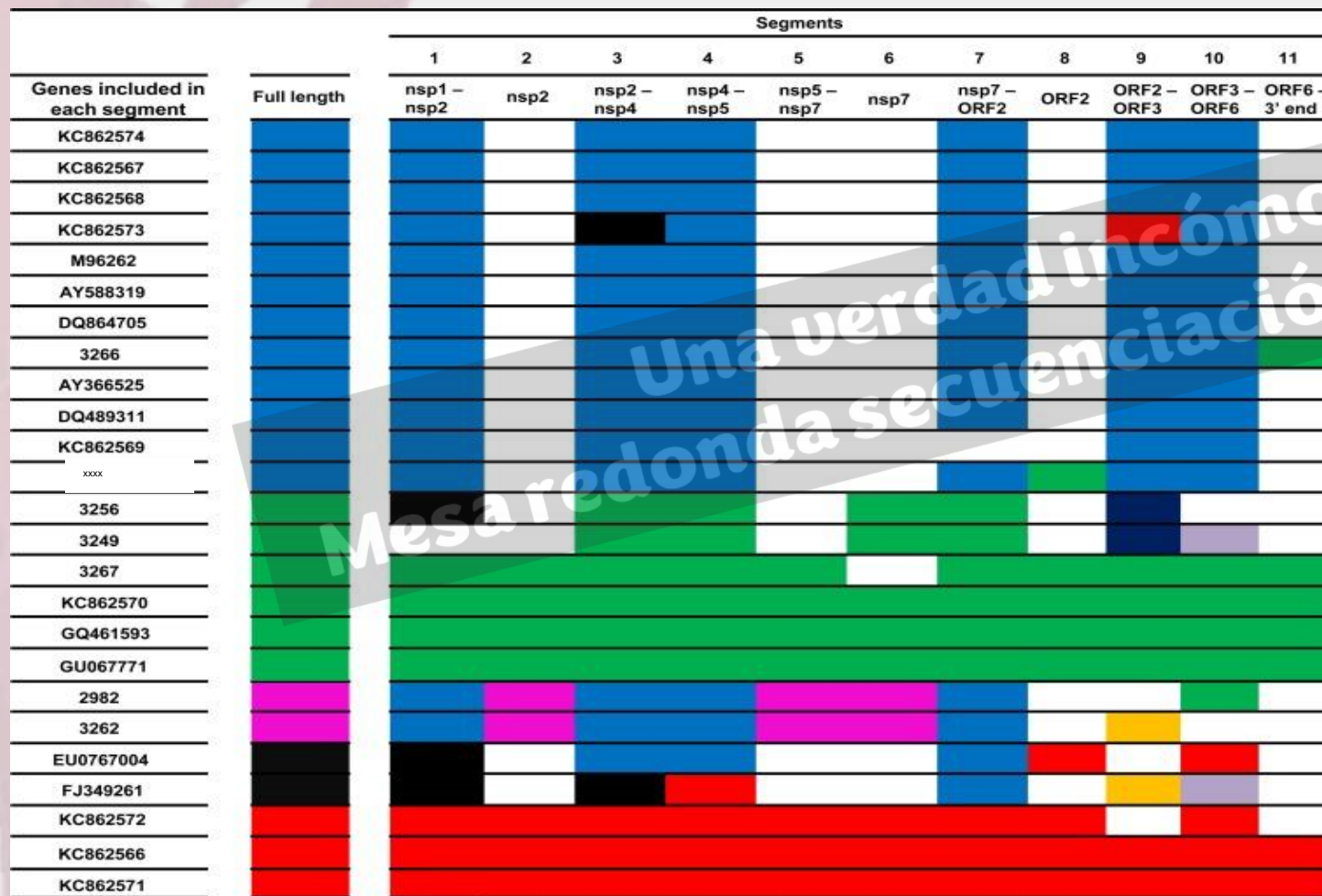
Importaciones españolas de cerdos y lechones desde Países Bajos entre enero y septiembre.
Fuente: 333 a partir de datos de RVO.



El comercio de animales vivos es el motor más importante de la diseminación de PRRSV en Europa

Balka et al., 2018. Diversidad genética del PRRSV 1 en Europa Central y Oriental en 1994-2014: origen y evolución del virus en la región

El análisis de ORF5 y las secuencias completas de los aislados de PRRSV 1 y 2 recuperados en todo el mundo proporciona evidencia de que la recombinación es un fenómeno común y puede producir aislados en mosaico
GE Martín-Valls, L K Kvisgaard, M Tello, L Darwich, M Cortey, AJ Burgara-Estrella, J Hernández, LE Larsen, E Mateu
J Virol. 2014 Mar;88(6):3170-81. doi: 10.1128/JVI.02858-13

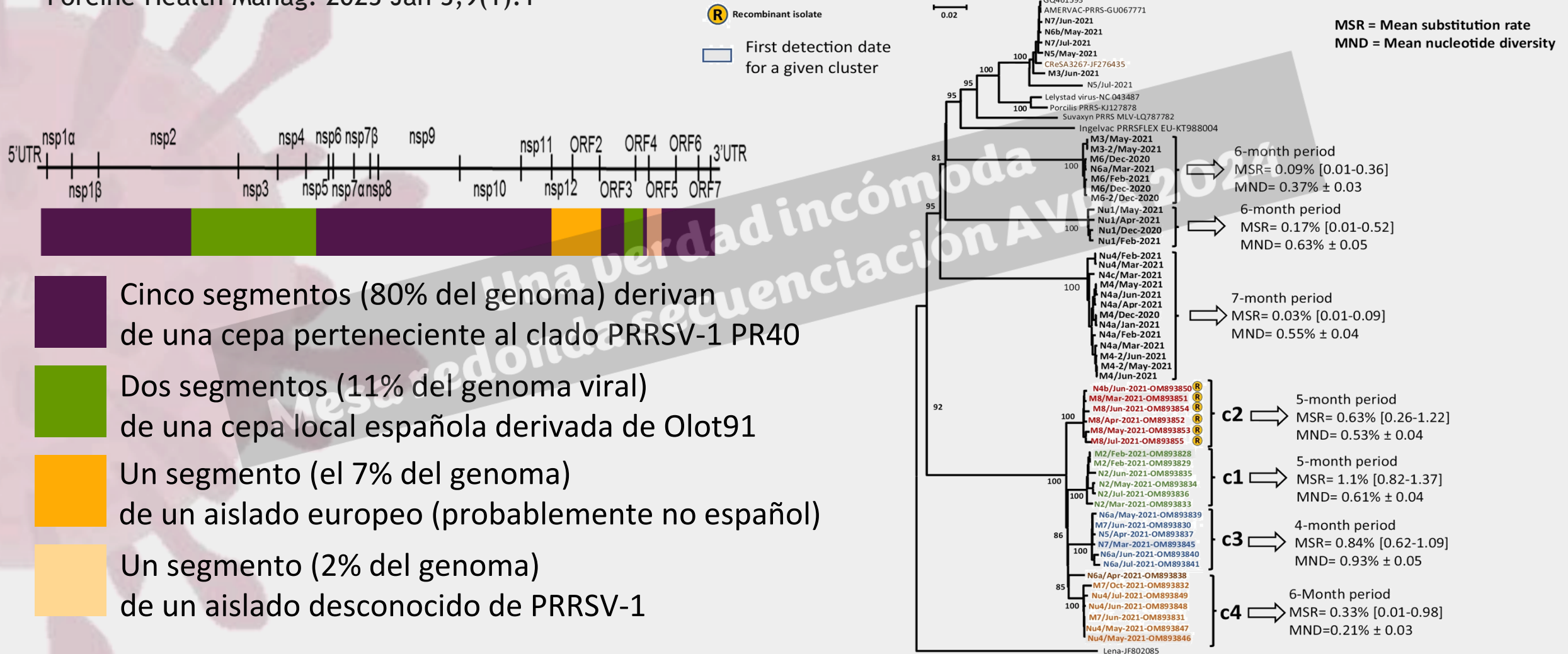


Cepas mosaico

Introducción de una cepa de PRRSV-1 de mayor virulencia en una estructura de producción porcina en España: evolución del virus e impacto en la producción

GE Martín-Valls, M Cortey, A Allepuz, F Illas, M Tello, E Mateu

Porcine Health Manag. 2023 Jan 3;9(1):1



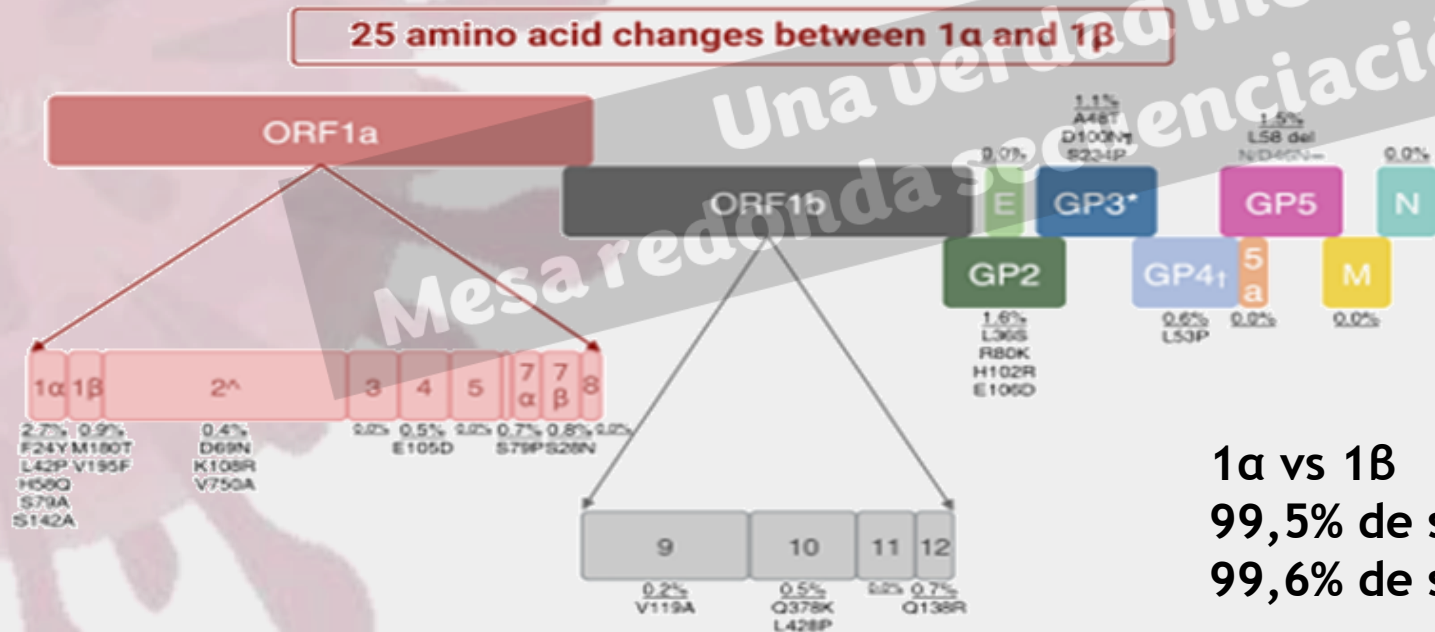
La selección de variantes virales con mayor transmisión y menor susceptibilidad a la neutralización, junto con introducciones laterales, puede explicar la persistencia del PRRSV en rebaños de cría vacunados

H Clilverd, Y Li, GE Martín-Valls, L Aguirre, M Martín, M Cortey, E Mateu

J Virol. 2014 Mar;88(6):3170-81

Variante 1α → 1β

La aparición de una variante con variaciones genéticas mínimas tuvo un impacto equivalente a la introducción de una nueva cepa en una granja.

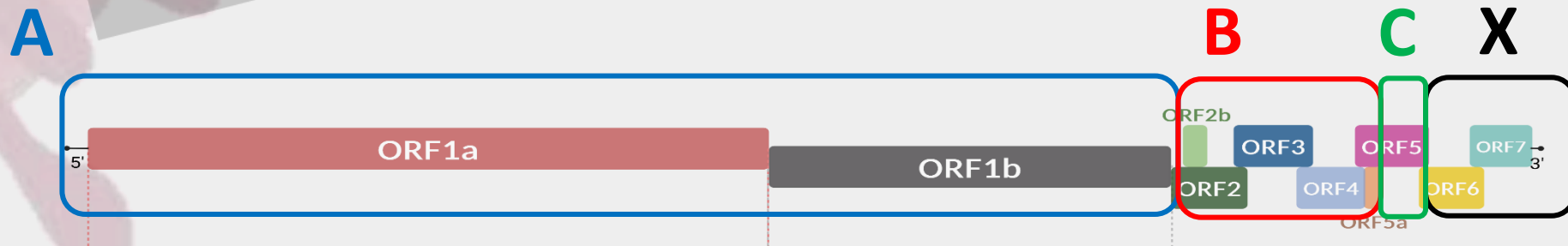
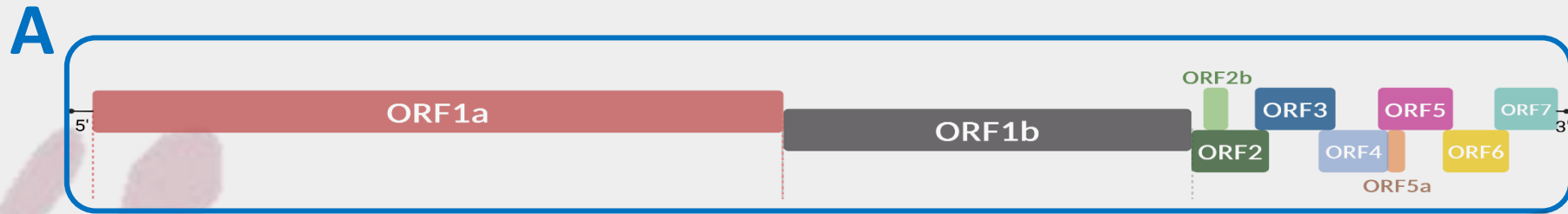


BIOSEGURIDAD EXTERNA E INTERNA

1α vs 1β

99,5% de similitud nucleotídica total

99,6% de similitud nucleotídica de ORF5



Limitaciones secuenciación SANGER de ORF5

La secuencia se obtiene a partir de una pequeña parte del virus

Es difícil detectar recombinaciones incluso en ORF 5

Imposible detectar recombinaciones más allá de ORF5

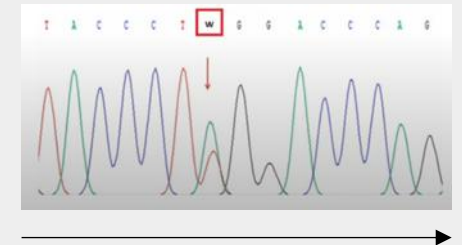
La secuencia es un consenso

No sabemos si hay más de una cepa en la muestra

Comparación cepas ORF5

- Calidad de la lectura (laboratorio / calidad muestra / muestras agregadas)
- Porcentajes similitud (97%?)
- Árbol filogenético

Cromatograma



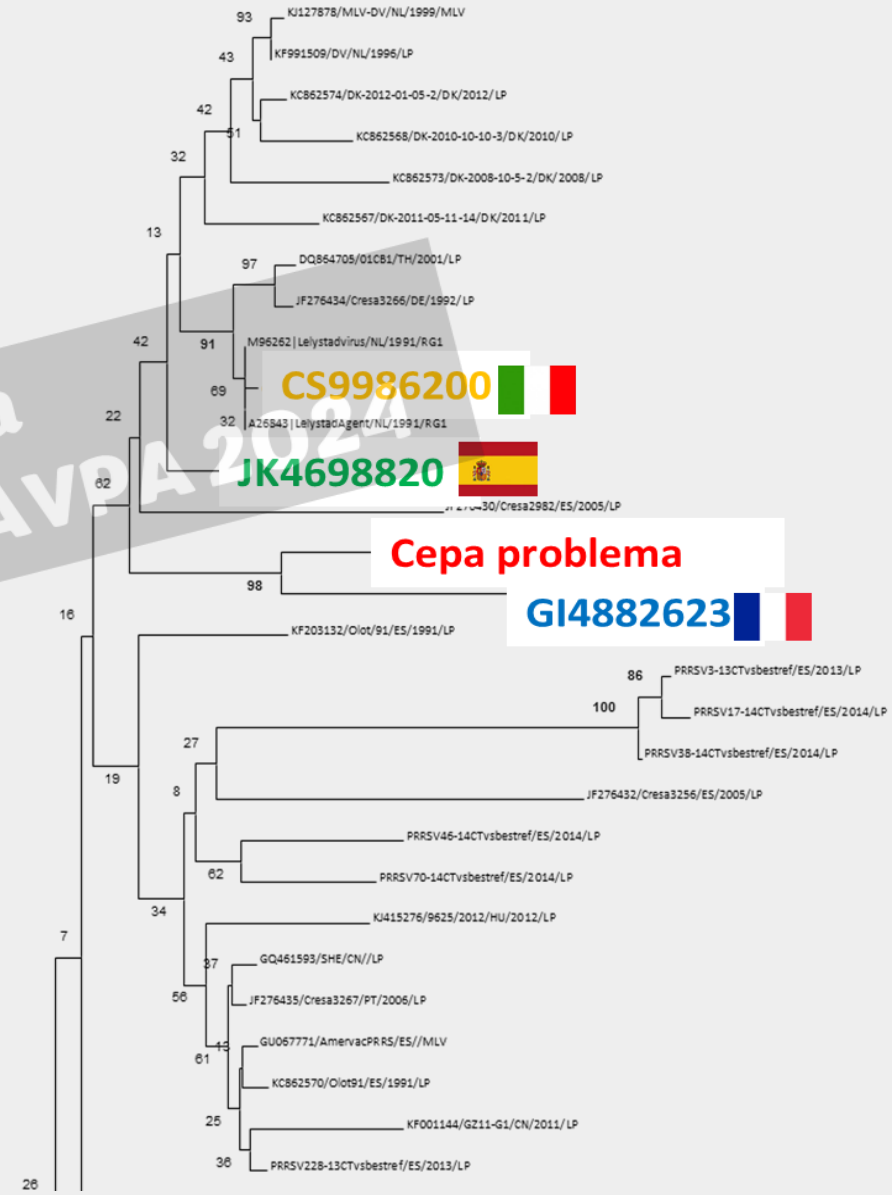


96% **GI4882623** 

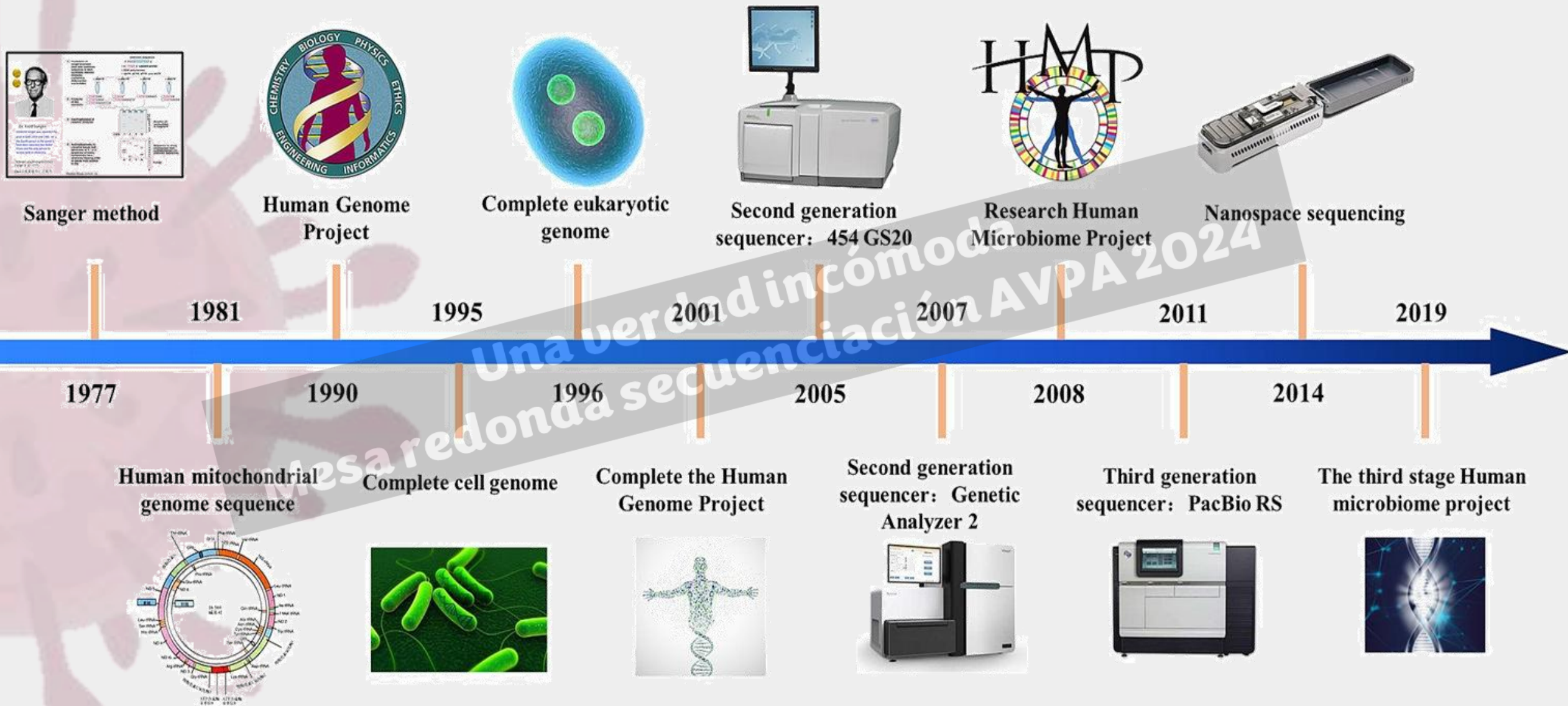
96% **JK4698820** 

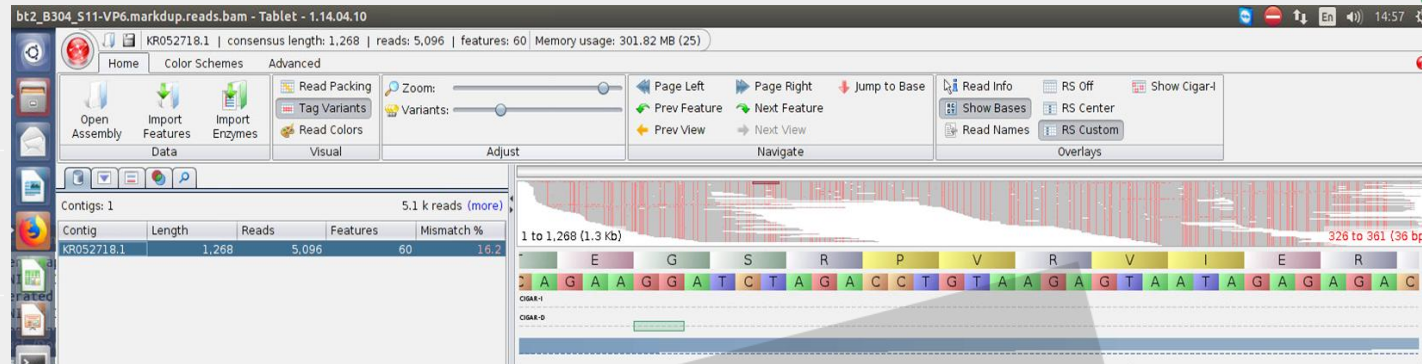
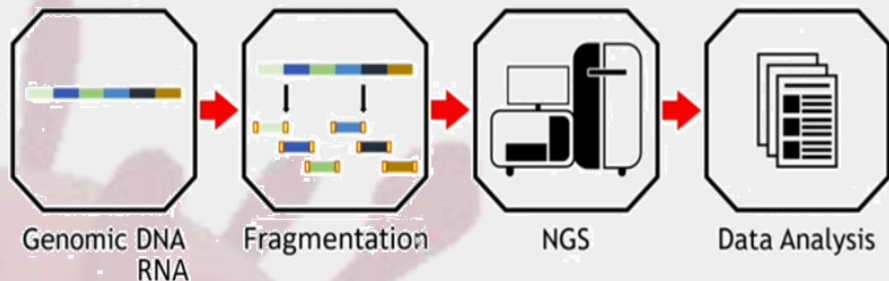
96% **CS9986200** 

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
C1	A	T	C	T	A	C	T	C	C	T
C2	A	T	G	T	A	G	T	C	C	T
C3	A	T	A	T	A	C	T	C	C	T
C4	A	T	T	T	A	G	T	C	C	T
	A	T	G	T	A	C	T	C	C	T
	A	T	C	T	A	G	T	C	C	T
	A	T	G	T	A	G	T	G	C	T
CP	A	T	C	T	A	C	T	G	C	T



Yang *et al.*, 2020. Review on the Application of Machine Learning Algorithms in the Sequence Data Mining of DNA. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*. 8: 1032.





Determinar si hay más de una cepa en la muestra
Diferenciar variantes
Identificar recombinaciones
Obtención de la secuencia completa del genoma

Se necesita más cantidad de virus

Coste

Interpretación de grandes cantidades de datos => Necesidad de personal altamente especializado (bioinformáticos)

Importancia biológica de los datos

¡No toda la secuenciación masiva es igual!

Precisión de secuencia

Profundidad - Número de lecturas por muestra

LA VERDAD INCÓMODA

- El virus tiene el potencial intrínseco de crear variantes/cepas que nos den problemas
↑ Replicación viral, ↑ Población viral, ↑ Variabilidad genética.
↑ Cepas/variantes que circulan al mismo tiempo en una granja, ↑ Posibilidad de recombinación
- Mientras el virus circule, surgirán cepas/variantes más aptas/diferentes/virulentas.

LAS IMPLICACIONES PRÁCTICAS

1. Las actuaciones/medidas que se apliquen en la granja/empresa/sector se pueden dividir en: favorecen o no la transmisión (variabilidad) del virus.
2. La seroinoculación y aproximaciones parecidas para inmunizar a las cerdas deben desterrarse.
3. No usar vacunas diferentes al mismo tiempo. Espaciar el cambio de vacuna. No vacunar a los animales virémicos.
4. **BIOSEGURIDAD, BIOSEGURIDAD, BIOSEGURIDAD... Y MANEJO.**



Enric Mateu
Martí Cortey
Alberto Allepuz
Margarita Martín
Gerard Martín
Montse Tello
Laia Aguirre
Hepzibar Clilverd
Yanli Li
Soledad Serena
Mònica Alberch
Ivan Domingo



UAB
Universitat Autònoma
de Barcelona



Ivan.diaz@uab.cat

<https://www.researchgate.net/profile/Ivan-Diaz-6>