

# Respuesta Inmunológica del PRRSV al Reto Homólogo y Heterólogo

L. Batista<sup>1</sup>, S. Dee<sup>1</sup>, C. Pijoan<sup>1</sup>, H.S. Joo<sup>1</sup>, M. Olin<sup>2</sup>, T. Molitor<sup>2</sup>, Z. Xiao<sup>2</sup> y M. Murtaugh<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Swine Disease Eradication Center, <sup>2</sup>CAPS, <sup>3</sup>Veterinary Pathobiology  
University of Minnesota

## Introducción

Es bien sabido que el cerdo desarrolla tanto inmunidad humoral como celular después de la infección con el PRRSV, pero su importancia con relación a la protección y eliminación del virus todavía no se entiende completamente. Los anticuerpos específicos contra el PRRSV (IgM e IgG) se desarrollan aproximadamente 7-14 días después de la infección y pueden ser detectados mediante las pruebas indirecta de anticuerpos fluorescentes (IFA), seroneutralización (SN), inmunoperoxidasa de monocapa (IPMA) y ELISA. También existe una respuesta específica de células T que inducen una respuesta celular de larga duración (>1año). Esta respuesta se puede estudiar mediante ELISPOT, blastogénesis, Citometría de Flujo y la prueba de hipersensibilidad retardada.

También se ha establecido<sup>14</sup> que tanto las células específicas al virus protectoras de IFN- $\gamma$  y los anticuerpos neutralizantes que pueden estar involucrados en la eliminación del virus no se detectan hasta varias semanas después de la exposición al virus. La mayor parte de todos estos experimentos son preliminares por lo que el estudio de los parámetros inmunológicos claves es importante para entender las bases para este supuesto retraso en la producción de la inmunidad protectora. El entendimiento de ello nos llevará a la posible producción de vacunas y herramientas diagnósticas que diferencien a los animales persistentes de los que ya han liberado al virus.

En nuestros estudios previos<sup>12</sup> intentamos reproducir dos situaciones clínicas muy comunes en la producción porcina, o la inyección natural con la cepa(s) homólogas del PRRSV en las hembras primerizas en aclimatación en una unidad todo dentro/todo fuera o una población de hembras que recientemente experimentaron un brote de PRRSV. Los resultados de nuestro experimento utilizando 120 hembras de 4 meses de edad y 30 centinelas de la misma edad, indicaron que la persistencia se limita a <120 días y la eliminación a <de 90 días.

Nuestro grupo maneja la hipótesis de que el cese de la viremia y eliminación detectable del PRRSV se debe al desarrollo de la inmunidad esterilizante, que sería la tercera fase de la infección del PRRSV, después de la viremia aguda y la persistencia. Una vez que el virus se elimina, aparentemente el huésped tiene una inmunidad de por vida contra la cepa homóloga del PRRSV<sup>13</sup>.

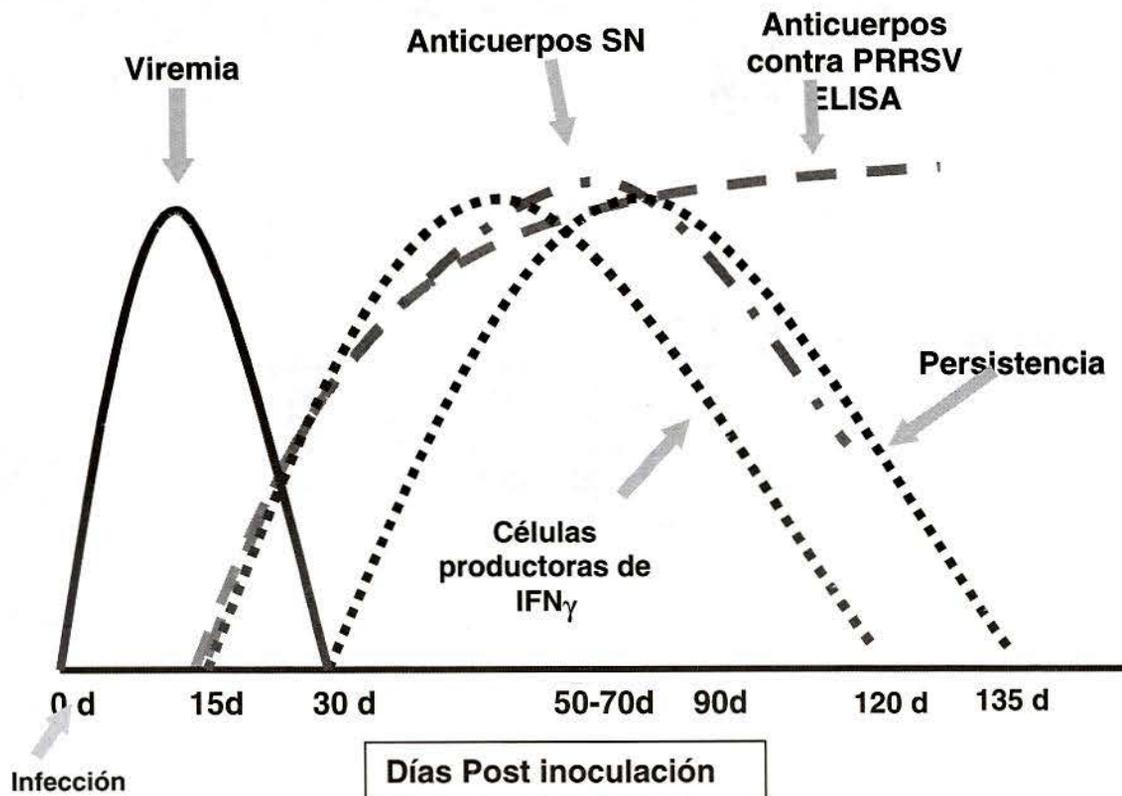
Los objetivos de este experimento fueron:

### **Fase 1:**

1. Documentar la dinámica de la persistencia del PRRSV en una población de primerizas del día 0 al 135 post-infección.
2. Caracterizar la respuesta humoral y celular contra el PRRSV.
3. Estudiar la respuesta de los linfocitos en los diferentes tejidos linfoides.

## **Resultados**

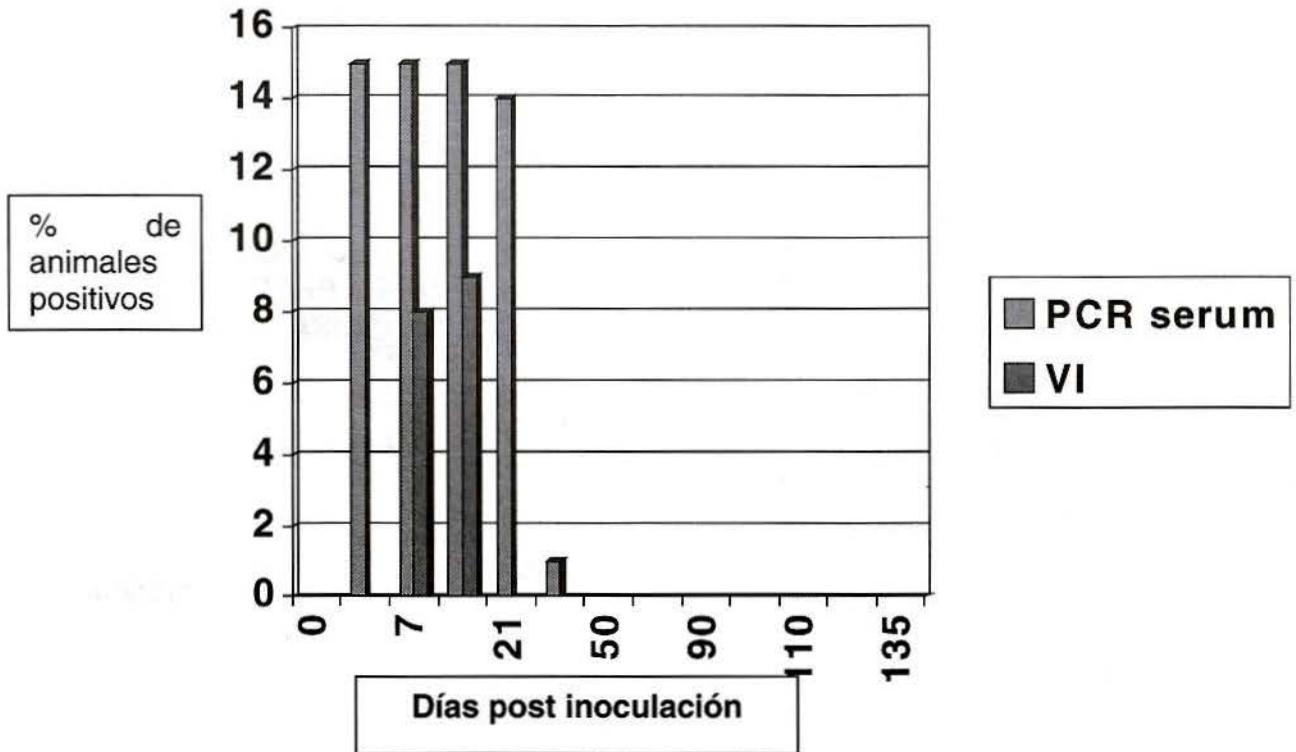
Figura 1. Respuesta inmunológica al PRRSV en poblaciones adultas



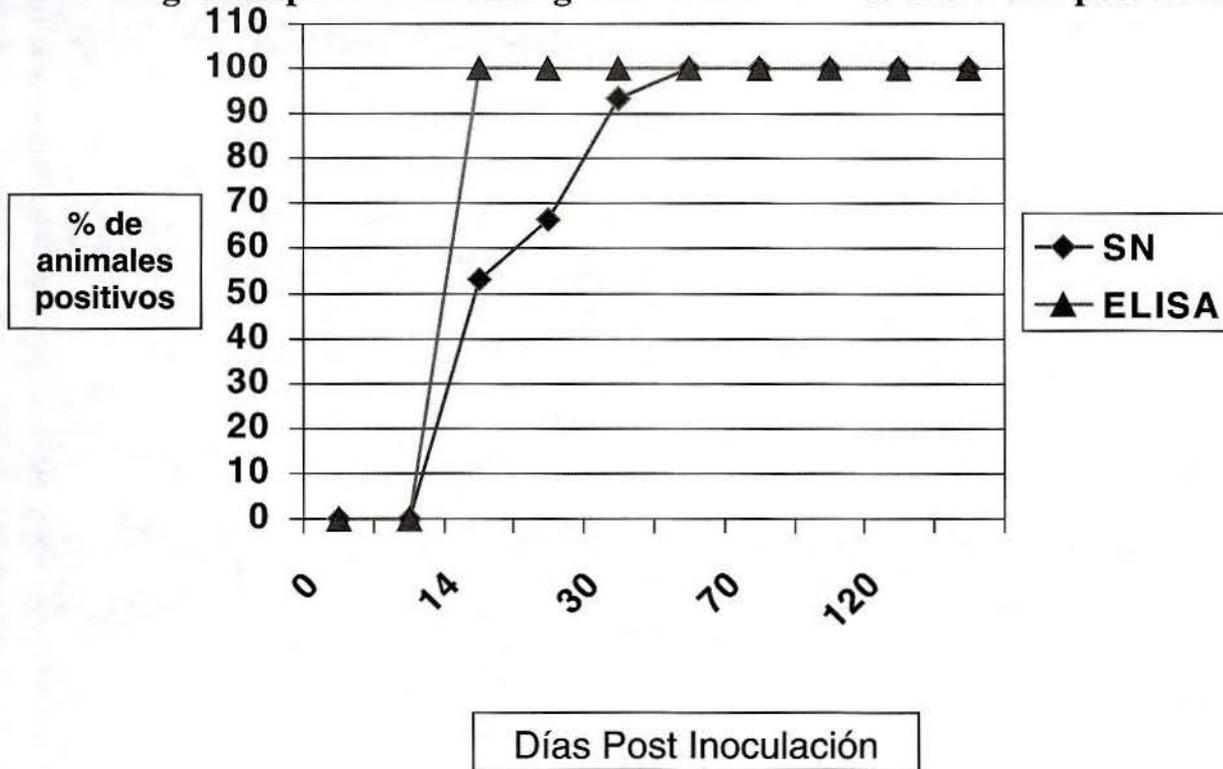
Esta figura presenta la respuesta inmunológica contra el PRRSV. Nuestros resultados coinciden con los reportes previos en cuanto a la fase aguda de viremia y la respuesta humoral. Sin embargo, nosotros pudimos aislar virus de algunos animales hasta 135 días post infección, un periodo mayor que en nuestro experimento anterior. También encontramos una respuesta celular mucho más rápida (células productoras

de IFN- $\gamma$ ) y viremia ante la presencia de anticuerpos seroneutralizantes, así como de IFN- $\gamma$ . En el pasado estos dos medidores de inmunidad se consideraban como los productores de la inmunidad esterilizante.

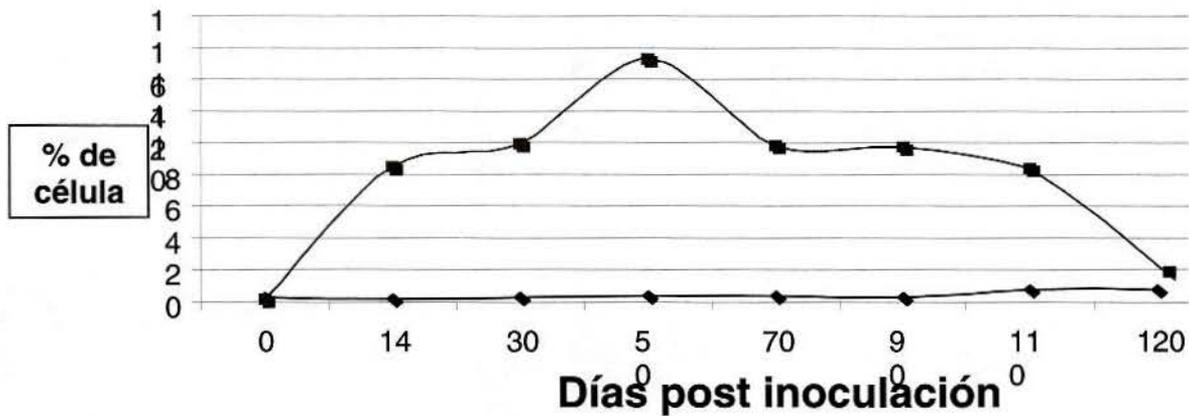
**Fig. 2 Respuesta virológica al PRRSV en los días 0-135 post-infección**



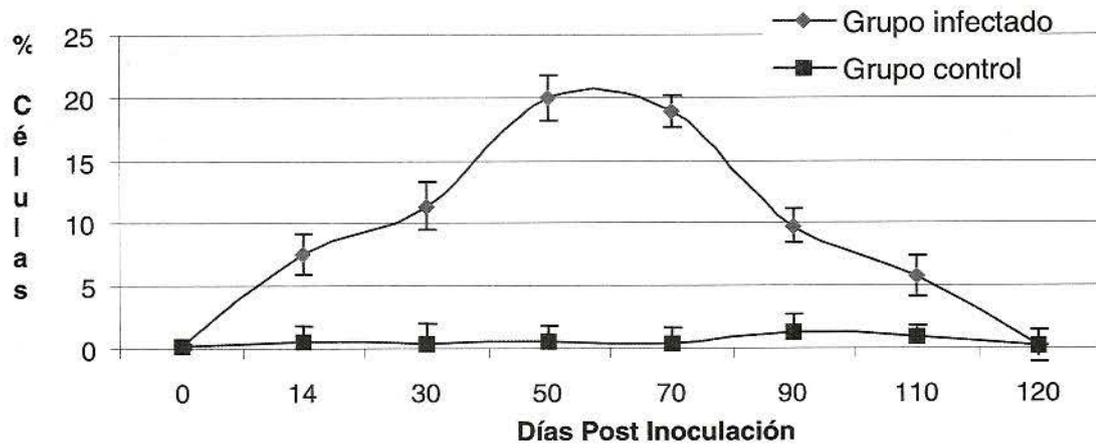
**Fig. 3 Respuesta inmunológica al PRRSV en los días 0-135 post-infección**



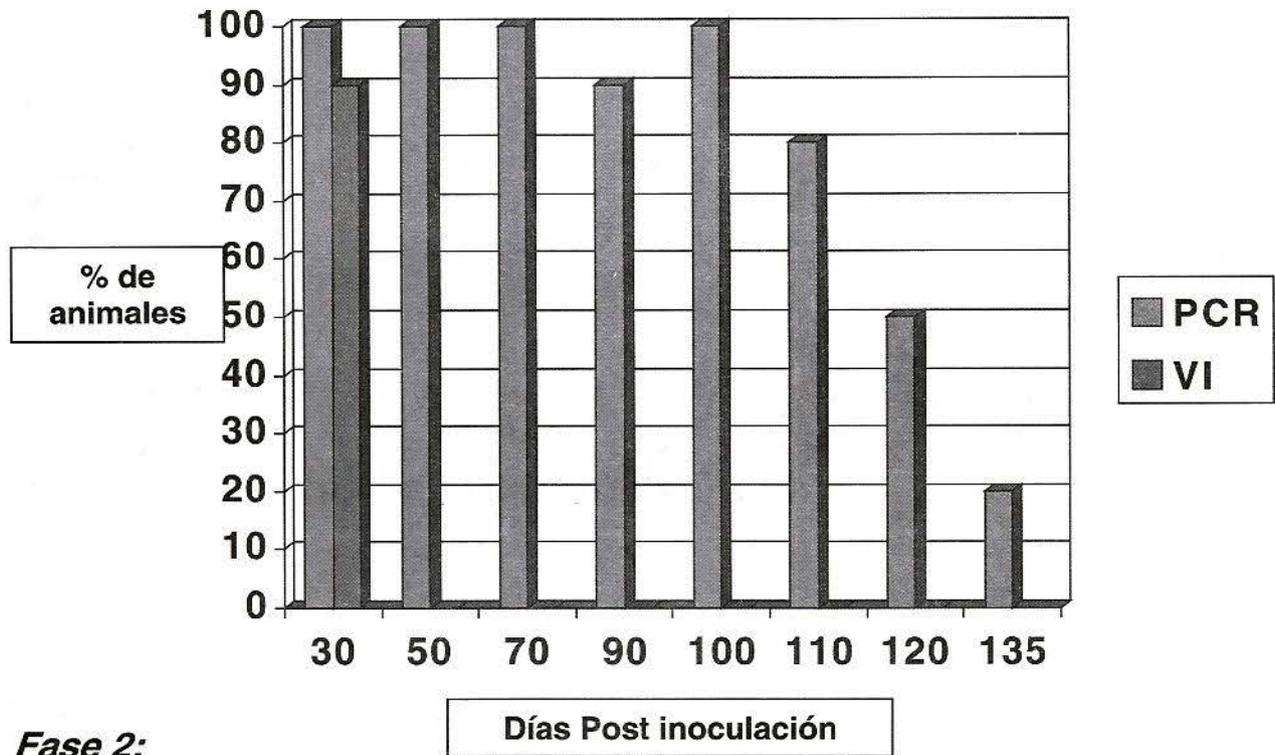
**Fig. 4 Respuesta celular contra el PRRSV del día 0-120 medida en % de células productoras de IFN $\gamma$  mediante citometría de flujo**



**Fig. 5 Proliferación Celular contra el PRRSV del día 0-120 post-infección**



**Fig. 6 Persistencia en homogeneizado de tejidos del día 30-135PRRSV**



**Fase 2:**

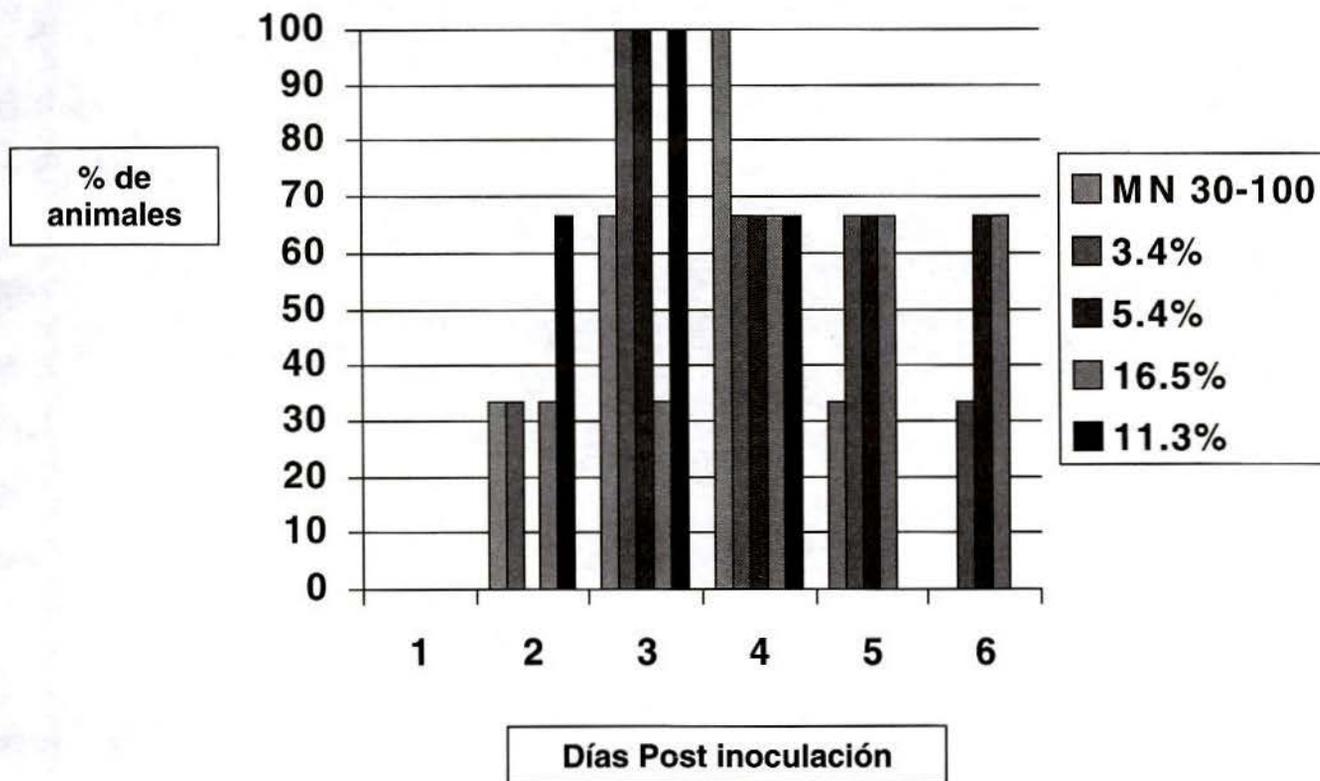
1. Documentar la dinámica de la respuesta celular y humoral contra el PRRSV en una población de animales previamente infectados y retados con diferentes cepas heterólogas.

Grupo 1: MN30100 grupo no retado  
 Grupo 2: MN30100 grupo homólogo  
 Grupo 3: 10221-4, 3.4% heterología  
 Grupo 4: 25616-32, 5.4% heterología  
 Grupo 5: VR2332, 16.5% heterología  
 Grupo 6: 1-8-4, 11.3% heterología

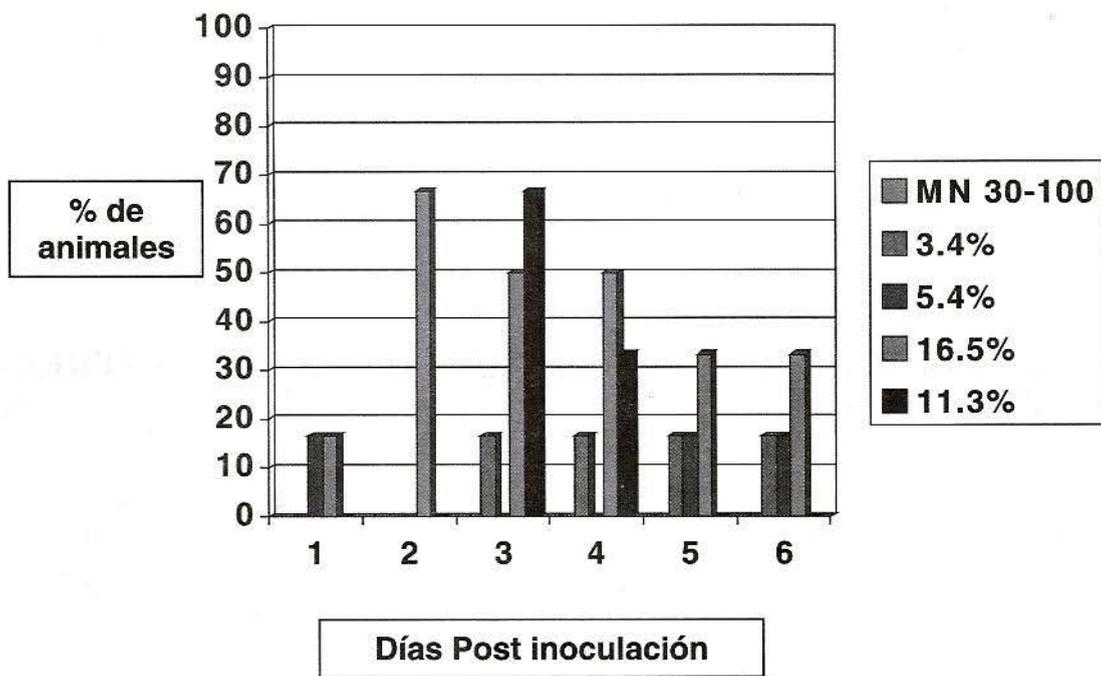
NOTA: Todos basados en ORF 5 que representa solo el 1% del genoma total del PRRSV.

## Resultados

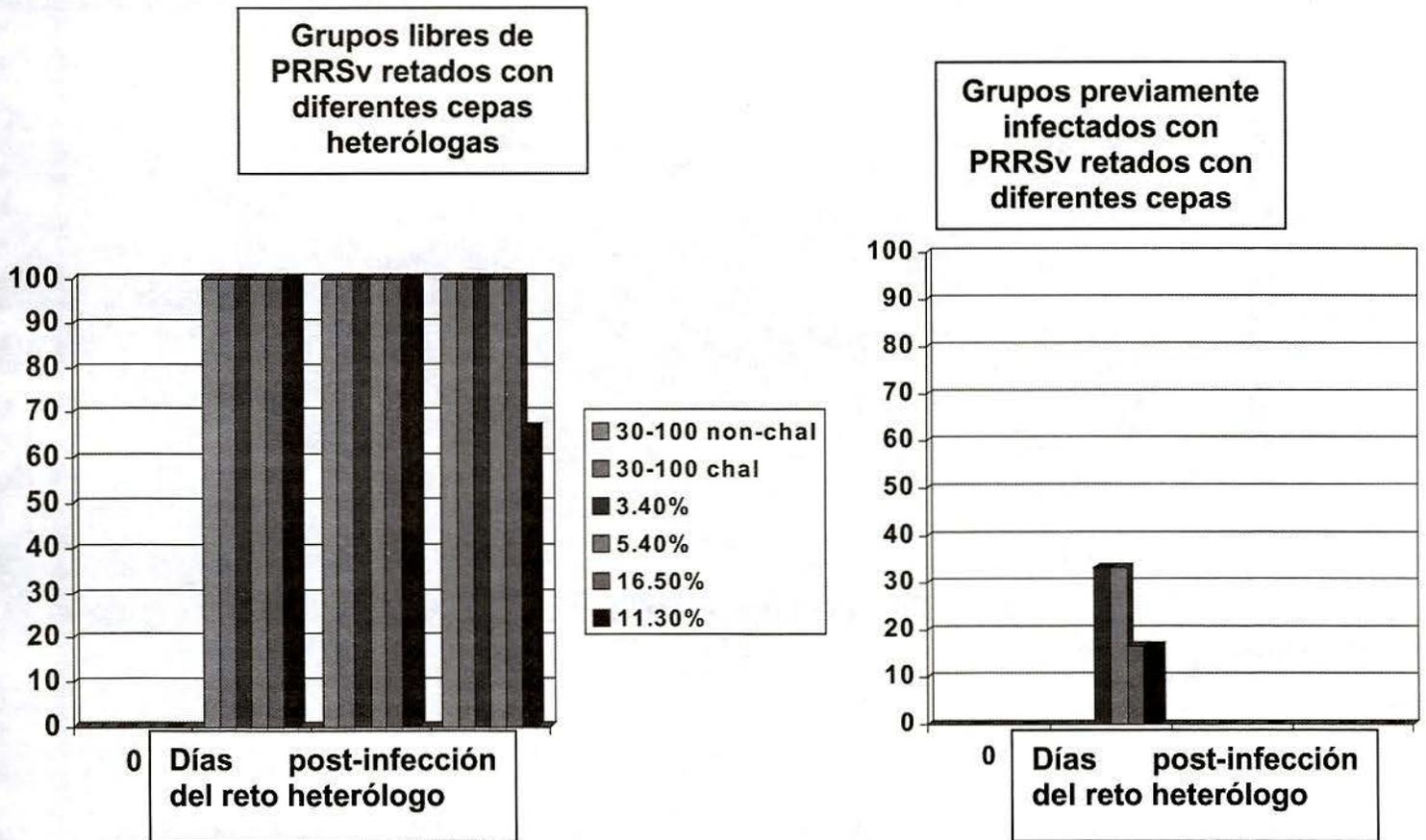
**Fig. 7** Respuesta clínica (medida en fiebre) en el grupo libre/negativo de PRRSV retado con las diferentes cepas.



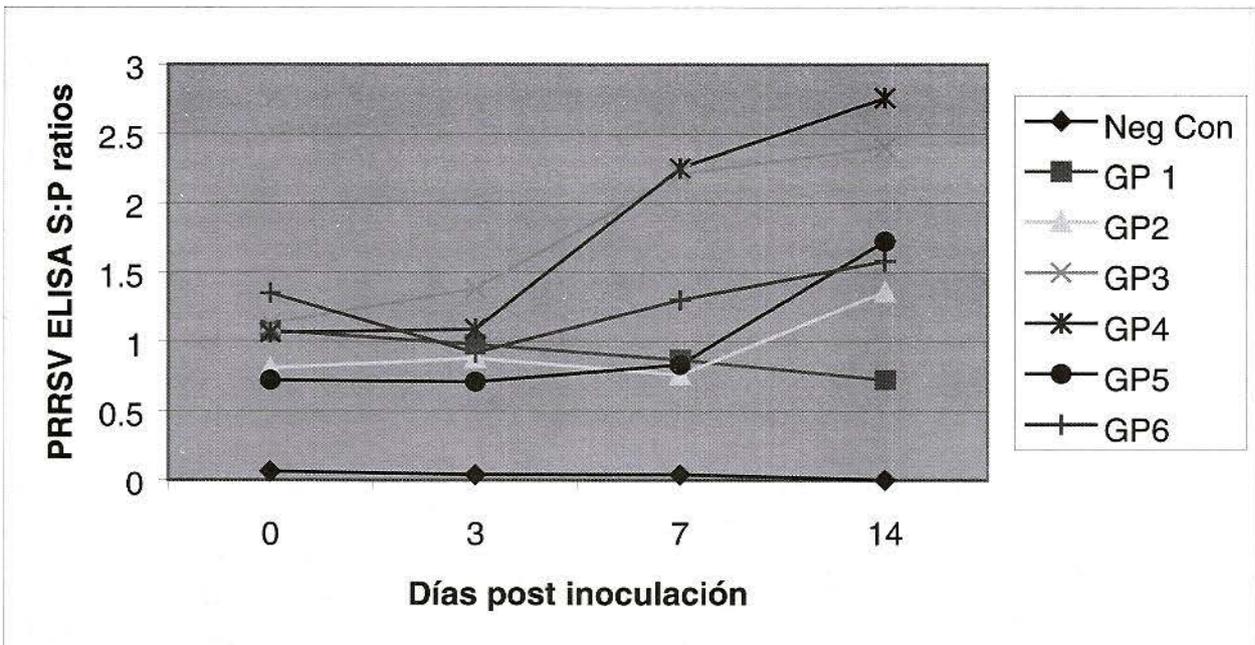
**Fig. 8** Respuesta clínica (medida en fiebre) de animales al reto heterólogo de los grupos previamente inoculados con el PRRSV



**Fig. 9 Respuesta virológica (% de animales positivos en PCR)**



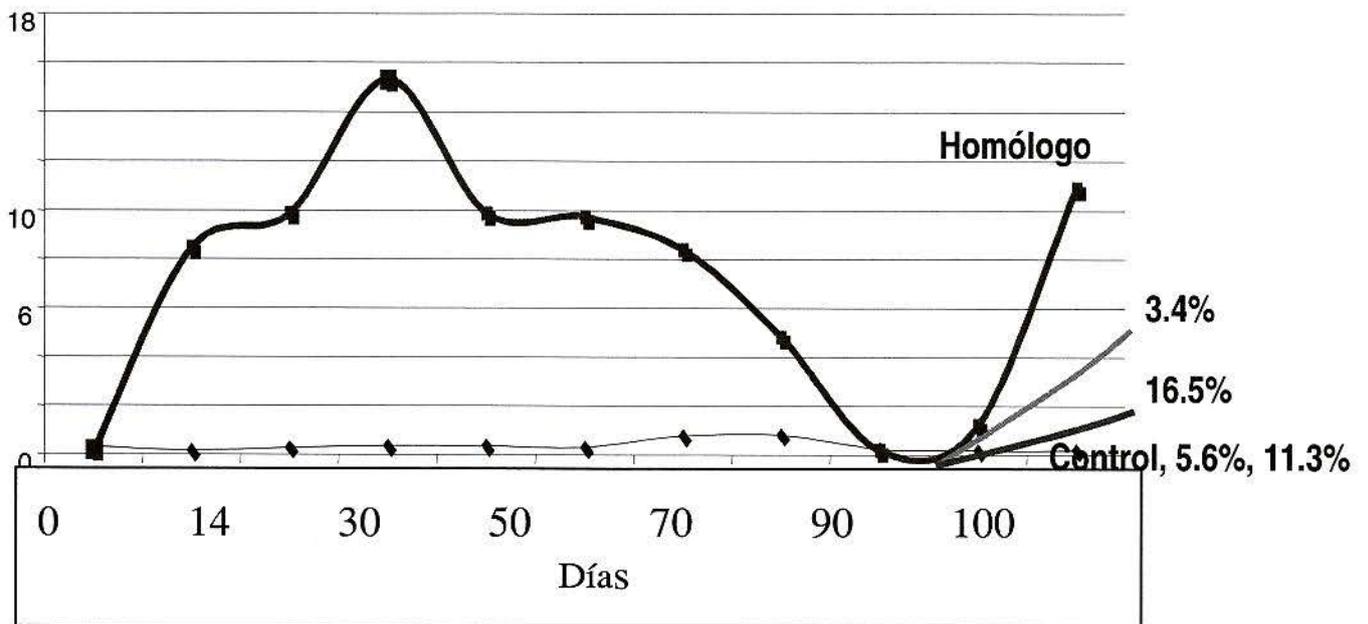
**Fig. 9** Respuesta a la prueba de PRRSV ELISA de los diferentes grupos previamente inoculados al reto heterólogo del PRRSV.



**Fig. 10** Respuesta celular (% de células productoras de IFN- $\gamma$ ) al reto heterólogo de los diferentes grupos previamente infectados con PRRSV

Conclusiones

Fase I



- Se documentó persistencia en animales adultos hasta 135 días post-inoculación
- Se observó una reducción en el número de animales persistentemente infectados entre el día 100 (10/10) y el día 135 (2/6).
- En contraste con los datos de Mier et al. el análisis de ELISPOT indicó la presencia de linfocitos PRRSV-específicos secretores de IFN- $\gamma$  a los 14 días y que declinaron en el día 70
- En contraste con la información presentada por Osorio et al. se observó viremia y persistencia en presencia de anticuerpos seroneutralizantes.

### *Fase 2*

- El día 3 post-infección, se detectó viremia en pocos animales de todos los grupos de reto heterólogo, pero no en los días 7 o 14 post-inoculación.
- Se encontraron signos clínicos de la infección (temperatura de  $>40^{\circ}\text{C}$ ), anorexia y depresión en los algunos animales de grupos de reto heterólogo, pero no en el homólogo.
- No se encontraron diferencias aparentes en la respuesta clínica entre los grupos retados con diferentes cepas heterólogas por lo que no se puede relacionar la diferencia genómica con protección
- La inmunidad protegió al 100% contra el reto homólogo y aunque no en el 100% en el reto heterólogo, la inmunidad heteróloga bajo las condiciones de nuestro experimento es bastante robusta.
- En todos los grupos de reto heterólogo se observó una rápida respuesta humoral anamnésica 14 días post-infección.
- El grupo homólogo presentó una respuesta celular alta y rápida mientras que los grupos retados con cepas heterólogas presentaron diferencia en la intensidad de la respuesta celular. Esta rápida respuesta celular podría explicar la ausencia de viremia en el grupo homólogo.

### *Referencias*

1. Dee SA et al. (1997) *Veterinary Record* 140:498-500.
2. Allende, et al. (2000) *Journal of Virology* 74(22): 1034-1083
3. Ahmed R et al. (1996) *Field's Virology*. Philadelphia: Lippencott-Raven, 1996: 219-249.
4. Ahmed R et al. (1997) *Viral Pathogenesis*. Philadelphia: Lippencott-Raven, 181-206.
5. Wills RW, et al. (1997) *Vet Micro* 55:231-240.
6. Bierk MD et al. (2001). *Can J Vet Res* 65: 261-266.
7. Dee SA et al. (1994) *JSHAP* 3:64-69.
8. Dee SA (2000) *Compend Ed Pract Vet* 22:S27-S35.
9. Dee SA et al. (2000) *Vet Rec* 146: 211-213.
10. Dee SA et al. *JSHAP* 5:231-239.
11. Batista L et al. (2002) *JSHAP* 10(4):147-150.
12. Batista L et al. (2002) *CJVR* 66:169-200.
13. Osorio F et al. (2001). AASV361-366
14. Meir W et al. (2000) *Vet Res* 31:41
15. Xiao, Z et al. (2002) *CRWAD* pp.167