

Novedades en el diagnóstico del Virus del síndrome reproductivo y respiratorio porcino (PRRSV)

Albert Rovira

Veterinary Diagnostic Laboratory
University of Minnesota

Durante los primeros años tras el descubrimiento del PRRSV gran parte de la investigación se centro en evaluar el mejor modo de diagnosticar los casos clínicos. Gracias a ello, hoy en día sabemos que el diagnóstico de PRRSV y la evaluación de su importancia en casos clínicos se basa en la sintomatología, los hallazgos de necropsia, las lesiones microscópicas, y la detección del virus, ya sea mediante aislamiento viral, PCR o inmunohistoquímica. Los detalles de este diagnóstico, desde los síntomas característicos hasta las ventajas e inconvenientes de cada test de laboratorio, pasando por la selección de las muestras han sido largamente investigados y están disponibles en la literatura.

Durante los últimos años, la investigación en el campo del diagnóstico de PRRSV se ha centrado en el monitoreo (en granjas positivas) y la vigilancia epidemiológica (en granjas negativas) del virus. Sin embargo, el diseño de buenos programas de vigilancia no es una tarea sencilla. Implica la toma de decisiones importantes como el tipo de muestra, la prueba diagnóstica, el número de animales a muestrear (tamaño de muestra), la frecuencia de muestreo y la posibilidad de agrupar las muestras (pooling). En esta presentación se tratan algunas de estas cuestiones.

Vigilancia epidemiológica de PRRSV en centros de inseminación negativos:

Con el objetivo de recrear lo que sucede en una granja de verracos negativa cuando se infecta de PRRSV, se creó un modelo de simulación por computadora. El modelo simula la transmisión de PRRSV durante el primer mes desde la introducción del virus en una granja de 200 verracos. El modelo también calcula el número de animales que darían positivo a ELISA y PCR, teniendo en cuenta la diferente sensibilidad de cada test en cada

estadio de la infección. Con este modelo de transmisión se compararon varios protocolos de vigilancia epidemiológica basados en diferentes pruebas diagnósticas (ELISA y PCR), tipos de muestra (suero y semen), frecuencia de muestreo (3 veces por semana, semanalmente y bisemanalmente) y tamaños de muestra (10, 30 y 60 verracos). La principal conclusión de este estudio fue que los protocolos de vigilancia tienen que ser muy intensos para poder detectar una introducción de PRRSV en una granja negativa durante los primeros días. Por ejemplo, incluso el protocolo más intenso que se evaluó (PCR en suero de 60 verracos tres veces por semana) necesitaría 13 días para detectar el 95% de los casos.

Desgraciadamente, el modelo de simulación no se pudo usar para evaluar protocolos basados en la toma de hisopos de sangre (en lugar de suero) y en la evaluación de muestras en grupo (pools), ya que no existe suficiente información del efecto de estas estrategias en la sensibilidad de la PCR. Por ello, se llevó a cabo un nuevo estudio para comparar la sensibilidad de la PCR con diferentes muestras (suero, semen e hisopo de sangre) y diferentes agrupaciones de muestras (individual, grupos de 3 o grupos de 5). Las muestras se obtuvieron de 29 verracos inoculados con una cepa poco virulenta de PRRSV. Todos los animales se muestrearon cada 2-3 días durante dos semanas. Se hizo la PCR de todas las muestras individualmente, o diluidas a razón de 1:3 y 1:5 en muestras negativas. Once de los 29 verracos no seroconvirtieron a los 15 días post-inoculación, lo que sugiere que no se infectaron del inoculo. Los resultados de los otros 18 verracos indicaron que el suero es la mejor muestra para detectar PRRSV durante la fase aguda de la infección. El hisopo de sangre demostró ser una buena alternativa al suero. Por el contrario, la mayor parte de las muestras de semen fueron negativas. Las muestras diluidas en grupos de 3 y 5 mostraron una disminución de la sensibilidad de la PCR. Esta disminución fue del 6% y 8% para muestras de suero e hisopo de sangre, respectivamente. Además, esta reducción de la sensibilidad fue incluso mayor para muestras obtenidas durante el principio del periodo virémico (primeros 3-5 días). En conclusión, la técnica del hisopo de sangre tuvo una sensibilidad muy similar a la del suero. Sin embargo, el uso de muestras agrupadas conlleva una menor sensibilidad de la

PCR, que debe tenerse en cuenta en el diseño de programas de vigilancia epidemiológica de PRRSV para centros de inseminación.

Vigilancia epidemiológica de PRRSV en granjas de reproductoras negativas:

Los protocolos de vigilancia de PRRSV en granjas de cerdas se basan normalmente en la detección de anticuerpos en suero mediante ELISA. Sin embargo, la sensibilidad de estos protocolos es limitada debido a que, por razones de presupuesto, solo se puede muestrear un número reducido de cerdas. Por otra parte, debido a la relativamente baja especificidad de la prueba diagnóstica, frecuentemente nos encontramos con falsos positivos. Una estrategia que ha permitido en otros casos aumentar la sensibilidad y especificidad de un protocolo de diagnóstico sin incrementar el costo es el uso de muestras en grupos (pooling). Por ello, se llevó a cabo un estudio para evaluar la posibilidad de correr las muestras de suero en grupos para la detección de anticuerpos frente a PRRSV mediante ELISA. El efecto del tamaño del grupo de muestras en la sensibilidad y especificidad del ELISA se evaluó diluyendo sueros positivos (de animales inoculados experimentalmente) y falsos positivos (de granjas negativas) en suero negativo, respectivamente. Las estimaciones de sensibilidad y especificidad se utilizaron después para calcular la sensibilidad y especificidad de rebaño de diferentes protocolos de vigilancia en diversos escenarios. Los resultados mostraron que, a mayor tamaño de los grupos de muestras, la sensibilidad disminuye y la especificidad aumenta. A nivel de rebaño, algunos protocolos mostraron una alta sensibilidad, al tiempo que mantuvieron una alta especificidad sin incrementar los costos. Esto fue posible aumentando el número de animales muestreados, y corriendo las muestras en grupos. Por lo tanto, el uso de muestras en grupos (pooling) se puede utilizar para mejorar los protocolos tradicionales de vigilancia epidemiológica de PRRSV en granjas de reproductoras.

Referencias

1. Cahoon-Young B. et al. 1989. Sensitivity and specificity of pooled versus individual sera in a human immunodeficiency virus antibody prevalence study. *J Clin Microbiol*, 27:1893-1895.
2. Huinker, C.D. 2002. How boar studs are adapting to recent PRRS breaks. *Proc Allen D Leman Swine Conference*, 65-67.
3. Muñoz -Zanzi C. et al. 2006. Factors affecting sensitivity and specificity of pooled-sample testing for diagnosis of low prevalence infections. *Prev Vet Med*, 74:309-322.
4. Reicks D.L. et al. 2006. Sampling of adult boars during early infection with porcine reproductive and respiratory syndrome virus for testing by polymerase chain reaction using a new blood collection technique (blood-swab method). *J Swine Health Prod*, 14:258-264.
5. Rovira A. et al. 2007. Evaluation of surveillance protocols for detecting porcine reproductive and respiratory syndrome virus infection in boar studs by simulation modeling. *J Vet Diagn Invest*, 19:492-501.
6. Rovira A. et al. 2007. Evaluation of the sensitivity of reverse-transcription polymerase chain reaction to detect porcine reproductive and respiratory syndrome virus on individual and pooled samples from boars. *J Vet Diagn Invest*, 19:502-509.
7. Rovira A. et al. 2008. Feasibility of pooled-sample testing for the detection of porcine reproductive and respiratory syndrome virus antibodies on serum samples by ELISA. *Vet Microbiol*:130: 60-68.